

THESIS

MUNICH

1966

**Studien über die Serumcholesterinester
im Nabelschnurblut und die Veränderungen
der Fettsäuren in den Plasmalipoiden
des Erwachsenen nach kohlenhydratreicher,
fettarmer Diät**

Walter Londong

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. SEITZ

Studien über die Serumcholesterinester im Nabelschnurblut
und die Veränderungen der Fettsäuren in den Plasmalipoiden
des Erwachsenen nach kohlenhydratreicher, fettarmer Diät

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Walter Londong
aus
Neukirchen-Vluyn

1966

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. N. ZÖLLNER

Mitberichterstatter: Prof. Dr. W. SEITZ

Dekan: Prof. Dr. M. KIESE

Tag der mündlichen Prüfung: 4. Oktober 1966

Reuther Druck!
München 13, Ainmillerstr.4

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einführung	4
B. Problemstellung	8
C. Material und Methoden	9
I. Material	9
1) Nabelschnurblut	9
2) Seren von Säuglingen und Kleinkindern	9
3) Versuchspersonen für die Ernährungsversuche	10
4) Diätformeln	11
II. Methoden	13
1) Lipoidextrakt	13
2) Quantitative Cholesterin-Bestimmung	13
3) Dünnschichtchromatographie	13
a) Dünnschichtchromatographische Untersuchungen der Cholesterinester	14
b) Quantitative Auswertung der Chromatogramme	15
4) Gas-Chromatographie	16
a) Säulenchromatographische Isolierung der Cholesterinester	16
b) Umesterung	18
c) Säulenchromatographische Abtrennung der Phosphatide	20
d) Gaschromatographische Analyse der methylveresterten Fettsäuren	20

	Seite
e) Hydrierung der Fettsäuremethylester	21
f) Auswertung der Gaschromatogramme	
a) qualitativ	21
b) quantitativ	22
5) Quantitative Bestimmung von Gesamtlipoiden, Lipoidphosphor, Cholesterin und Neutralfett	22
D. Ergebnisse	23
E. Diskussion	44
F. Zusammenfassung	52
G. Literaturverzeichnis	54

A. Einführung

Die Kenntnisse auf dem Gebiet des Fettstoffwechsels haben während des letzten Jahrzehntes sehr zugenommen. Das ist vor allem darauf zurückzuführen, daß sich nach 1952 aus den richtungweisenden gaschromatographischen Experimenten von JAMES und MARTIN (1) fruchtbare Möglichkeiten für die quantitative und qualitative Analyse von Lipoidgemischen ergaben und in verschiedenen Laboratorien verwendet und weiterentwickelt wurden, um neue biochemische Informationen über die Lipide zu erhalten. Trotzdem sind die Kenntnisse über den Stoffwechsel der Fette und fettähnlichen Substanzen heute noch lückenhaft. So bestehen über den fetalen Lipoidstoffwechsel besonders unklare Vorstellungen, weil die spezifischen Transportfunktionen der Placenta (zusammengefaßt dargestellt von HAGERMAN und VILLEE (2)) vor allem durch die bis heute erfolglosen Bemühungen um die Entwicklung eines akzeptablen Placenta-Modells (3) noch nicht exakt ermittelt werden konnten. Auch stehen Untersuchungen über die Zusammensetzung der Nährstoffe, welche den menschlichen Feten erreichen, noch aus, so daß Rückschlüsse auf die vermutlich besonderen Stoffwechselmechanismen des intrauterinen Organismus kaum zu ziehen sind.

Für viele Nährstoffe bestehen zwischen der mütterlichen und der fetalen Seite der Placenta Konzentrationsunterschiede, deren Ursache unter anderem im Mechanismus des diaplacentaren Transports zu suchen sein dürften. Dieser Vorgang hängt nach BARTELS und MOLL (4) vom Konzentrationsgefälle zwischen mütterlichem und fetalen Blut, von der Durchflußrate und dem Permeabilitätskoeffizienten der placentaren Membran ab. Er funktioniert für Glucose offensichtlich sehr gut, für die Lipide jedoch nur bedingt (5). Nach McCANCE (3) erfolgt nämlich die nutritive Versorgung des Feten in erster Linie durch Glucose, die schneller als alle anderen Zucker (z.B. Xylose und Sorbose) die placentare Membran passiert (2). Eiweiß ge-

langt in Form von Aminosäuren, einfachen Polypeptiden (2) und mehreren Plasmaproteinen (6,7) in den fetalen Kreislauf. Die fetalen Blutspiegel für Zucker und Aminosäuren sind gegenüber denen des Erwachsenen erhöht (2). Dagegen liegen nach den 1954 veröffentlichten Angaben von POPJÁK (8) die Lipoidwerte - mit Ausnahme des Kaninchens und Meerschweinchens - im fetalen Plasma niedriger als im mütterlichen Blut. Schon 1912 hatten HERMANN und NEUMANN (9), 1923 SIEMONS und STANDER (10), dann BOYD (11) und viele andere Autoren festgestellt, daß auch im menschlichen Nabelschnurblut geringere Mengen von Serumlipoiden vorkommen. Dasselbe trifft für die Lipoproteide zu, wie 1963 AUERSWALD und Mitarbeiter (12) durch flotationsanalytische Untersuchungen nachgewiesen haben.

1959 haben WIESE und HANSEN (13), 1960 WOODRUFF und CONIGLIO (14) durch Analysen der Gesamtfettsäuren eine im Vergleich zum Erwachsenenserum unterschiedliche Fettsäurezusammensetzung des Neugeborenenserums festgestellt. Mit Hilfe von Dünnschichtchromatographischen Untersuchungen zeigten 1962 ZÖLLNER und WOLFRAM (15) eine deutliche Verminderung der Dienfettsäuren der Cholesterinester aus Nabelschnurblut und eine Vermehrung der als einheitliche Esterfraktionen dargestellten Tri- und Tetraenfettsäuren (mit jeweils gleichem R_F -Wert).

ZÖLLNER und WOLFRAM (15) hielten es für möglich, daß diese für das Neugeborene als typisch erkannte Esterverteilung durch einen Mangel an essentiellen Fettsäuren zustande kommt. Hinweise hierfür lieferte die experimentell gut gestützte Hypothese des Arbeitskreises um HANSEN und WIESE, die Linolsäure als einen für den menschlichen Säugling essentiellen Nährstoff ansehen (16,17,18,19).

Durch eine von Linolsäure weitgehend freie Kost konnten bei Säuglingen innerhalb weniger Wochen Symptome eines Mangels an essentiellen Fettsäuren erzeugt werden (18,19). Charakteristika dieses Mangelzustandes waren neben Veränderungen der

Lipoidwerte (siehe unten) Trockenheit der Haut mit Schuppung, Verdickung und späterer Intertrigo. Histologisch hatten sich Hyperkeratose und Akanthose entwickelt. Entsprechende Hautveränderungen an jungen Ratten hatten erstmals 1929/30 BURR und BURR (20) nach Verfütterung fettfreier Nahrungen beschrieben. Diese Autoren führten den Begriff "essential fatty acid" ein (21) und sahen als solche Linolsäure, möglicherweise auch Linolen- und Arachidonsäure an (22). KINGERY und KELLUM (23) konnten kürzlich chemische Eigentümlichkeiten dieser Hautveränderungen auch histochemisch nachweisen. Nach diesen Autoren führt der Mangel an essentiellen Fettsäuren zu einer intra-epidermalen Störung des Phosphatidstoffwechsels. (HANSEN et. al. (24) haben ein Übersichtsreferat über die essentielle Bedeutung der Linolsäure für junge Tiere verschiedener Spezies zusammengestellt. AAES-JØRGENSEN (25) gab 1961 eine zusammenfassende Darstellung über den Stand der Erforschung der essentiellen Fettsäuren.) Ob die Linolsäure für den erwachsenen Organismus essentiell ist, ist bis heute nicht geklärt, da mit entsprechenden Ernährungsversuchen keine Fettmangel-Symptome erzeugt werden konnten. HOIMAN (26) gibt als Erklärung dafür an, daß beim Erwachsenen das Reservoir an Linolsäure mit etwa 500 g zu groß sei, als daß bei den üblichen Ernährungsversuchen Mangelercheinungen erzeugt werden könnten.

Bemerkenswert an den oben andeutungsweise beschriebenen Versuchen von HANSEN, WIESE und Mitarbeitern ist, daß sich mit dem Erscheinen der Hautsymptome die Zusammensetzung der Gesamtfettsäuren geändert hatte. Als charakteristisch für den Fettmangelzustand erwies sich neben einer Verminderung der Di- und Tetraensäuren ein Anstieg der Triensäuren. MEAD und SLATON (27) gelang bei jungen fettfrei ernährten Ratten der Nachweis, daß es sich bei der vermehrten dreifach ungesättigten Fettsäure um die Δ 5,8,11-Eikosatriensäure handelt, die - wie FULCO und MEAD (28) 1959 experimentell zeigten - dem Ölsäuretyp zuzurechnen ist. Bereits 1938 hatten NUNN und SMEDLEY-MACLEAN (29) an die Möglichkeit gedacht, daß die von ihnen bei Fett-Mangel-

Ratten isolierte "dihydroarachidonic acid" ein Abkömmling der Ölsäure oder einer aus Kohlenhydraten gebildeten gesättigten Fettsäure sein könnte. Wahrscheinlich sind Δ 5,8,11-Eikosatriensäure und "dihydroarachidonic acid" identisch.

Bei der Deutung ihrer Befunde waren ZÖLLNER und WOLFRAM (15) von der Annahme ausgegangen, daß die Placenta für essentielle Fettsäuren nur begrenzt durchlässig ist. Sie stützten sich dabei auf Untersuchungen über die placentare Undurchlässigkeit für trans-konfigurierte ungesättigte Fettsäuren, die JOHNSTON et al. (30) zeigen konnten. Im Sinne des Mangels an essentiellen Fettsäuren interpretierten sie die Vermehrung der Tri- und Tetraenfraktion als Ausdruck eines Anstiegs von drei- und vierfach ungesättigten Fettsäuren des Ölsäuretyps.

Nach ZÖLLNER (31) kommen für die Deutung der unterschiedlichen qualitativen und quantitativen Zusammensetzung der Serumlipide von Mutter und Neugeborenem a) andersartige Enzymmuster des Neugeborenen, b) das Vorwiegen eines anderen Organs für die Biosynthese von Lipid-Fettsäure-Estern oder c) Besonderheiten in der Fetalernährung in Betracht. Eine dieser Besonderheiten ist mit Sicherheit bedingt durch den bevorzugten diaplacentaren Transport von Kohlenhydraten (2) und der daraus resultierenden einseitigen Energieversorgung des fetalen Stoffwechsels (5), die eine Veränderung des Fettsäure-Spektrums im Nabelschnurblut nach sich ziehen könnte. Diese Überlegungen werden gestützt durch Untersuchungen von HIRSCH et al. (32), AHRENS und SPRITZ (33), FAIRHURST und WATERHOUSE (34) sowie MACDONALD und BRAITHWAITE (35), die durch kohlenhydratreiche Ernährung beim Erwachsenen sowohl die Konzentrationen der Plasmalipide als auch die Verteilung der in ihnen enthaltenen Fettsäuren beeinflussen konnten.

B. Problemstellung

Da die bisher untersuchte Anzahl von Nabelschnurseren auf die Fettsäure-Verteilung in den Cholesterinestern (15) gering ist, sollen in dieser Arbeit weitere dünn-schichtchromatographische Analysen von Cholesterinestern aus Nabelschnurblut vorgelegt werden. Um eine detailliertere Auftrennung in Fettsäure-Individuen zu bekommen und dadurch die Frage eines relativen Mangels an essentiellen Fettsäuren (15) klären zu können, werden einige Proben aus Nabelschnurblut auch gaschromatographisch analysiert werden.

Außerdem soll das postnatale Verhalten der mit Cholesterin veresterten essentiellen Fettsäuren dünn-schichtchromatographisch untersucht werden, um die Veränderungen dieser Cholesterinester in Abhängigkeit vom Alter und der Ernährung des Säuglings und Kleinkindes beurteilen zu können. Geklärt werden soll dabei vor allem die Frage, zu welchem Zeitpunkt das Kleinkind Erwachsenenwerte erreicht. Dieses Problem ist im Rahmen der "essential fatty acid deficiency in infants" (18,19) von Bedeutung.

Um die Möglichkeit einer kohlenhydratbedingten Verschiebung innerhalb der essentiellen Fettsäuren zu überprüfen, werden die genannten Ernährungsversuche am Erwachsenen (32,33,34,35) wiederholt werden. Dieses ist umso notwendiger, als keiner der angelsächsischen Autoren das Verhalten der langkettigen mehrfach ungesättigten Cholesterinester- und Phosphatidfettsäuren (insbesondere der Arachidonsäure) des Serums untersucht hat. Im Anschluß an diese Diätversuche wird das Depotfett analysiert werden.

Da ZÖLLNER (31) zeigen konnte, daß die Serumcholesterinester Besonderheiten im Fettsäurehaushalt widerspiegeln, erscheint im Rahmen der oben aufgeführten Problemstellung eine dünn-schicht- und gaschromatographische Untersuchung der fetalen und postnatalen Cholesterinester gerechtfertigt.

C. Material und Methoden

I. Material

1. Nabelschnurblut

Zur Bestimmung der Cholesterinester wurde in der II. Universitäts-Frauenklinik, München⁺, Nabelschnurvenenblut von insgesamt 22 ausgetragenen normalgewichtigen Neugeborenen stoffwechselgesunder Mütter gewonnen. Nach Durchtrennung des Funiculus umbilicalis wurde durch Punktion des placentaren Stranges bis zu 10 ml Neugeborenenblut gewonnen. Es wurden nur hämolysefreie Seren gewählt, die noch am gleichen Tag verarbeitet wurden. - Bei 18 Seren schloß sich an die quantitative Bestimmung des Gesamt- und Estercholesterins eine dünn-schicht-chromatographische Analyse der Cholesterinester an. In 4 weiteren Fällen erbrachte die Gaschromatographie eine detaillierte Auftrennung der Fettsäuren des veresterten Cholesterins.

2. Seren von Säuglingen und Kleinkindern

Für die dünn-schicht-chromatographische Untersuchung der Cholesterinester stellte die Kinderpoliklinik der Universität München⁺⁺ insgesamt 28 Blutproben von rekonvaleszenten Kindern zur Verfügung. Es handelte sich im einzelnen um 11 Säuglinge im Alter von 4 Wochen bis 9 Monaten, 13 Kleinkinder im 1. bis 3. Lebensjahr und 4 Schulkinder im Alter von 6 bis 9 Jahren. - Serum von zwei weiteren Säuglingen überließ dankenswerterweise Herr Prof.Dr.med. W. Droese aus der Universitäts-Kinderklinik München. Bei diesen Kindern wurde in der 5., 9., 11. und 13. Lebenswoche bei kontrollierter Ernährung Blut entnommen. Beide Kinder waren klinisch gesund und erhielten in den ersten sechs Wochen eine Halbmilch, danach eine Zweidrittel-Milch, der in einem Fall (H.O.) 2% Baumwollsaatöl zugesetzt worden

+ An dieser Stelle sei Herrn Prof.Dr.med. K.Semm und Herrn Dr.med. H.Welsch für die Überlassung des Untersuchungsmaterials gedankt.

++Besonderer Dank gilt Herrn Dr.med. R.Hocke, der sich freundlicherweise für die Abnahme der Blutproben eingesetzt hat.

war; der Gesamtfettsäuregehalt betrug bei Halbmilch 3,5 g%, bei Zweidrittel-Milch 4 g% und hatte einen Anteil von ca. 55% ungesättigter Fettsäuren, die sich etwa zu gleichen Teilen aus Ölsäure und Linolsäure zusammensetzten (36,37). Im anderen Fall (A.D.) enthielt die Halb- bzw. die Zweidrittel-Milch keinen Zusatz und diente als Kontrolle. Bei den oben zuerst genannten Kindern ließ sich die Ernährungsweise vor Aufnahme in die Klinik nicht immer exakt ermitteln, so daß auf eine Unterteilung in linolsäurereich und linolsäurearm ernährte Gruppen verzichtet werden mußte.

Bei den Säuglingen wurde durch Punktion des Sinus sagittalis superior Blut gewonnen, während die Blutproben der übrigen Kinder aus der Vena cubitalis stammen. Die Entnahme erfolgte mindestens 4 Std. nach der letzten Mahlzeit. Das Material wurde noch am gleichen Tag zentrifugiert und gefällt.

3. Versuchspersonen für die Ernährungsversuche

Vier klinisch und anamnestisch gesunde Normalpersonen unterzogen sich drei unterschiedlichen Ernährungsversuchen, wobei eine Versuchsperson (W.L.) an jedem Experiment teilnahm. In diesem Fall wurde darauf geachtet, daß zwischen den einzelnen Versuchen eine Pause von vier Monaten eingehalten wurde.

Angaben zu den Personen:

	Geschlecht	Alter	Körpergewicht
D.S.	w.	25 J.	53,0 kg
K.K.	w.	37 J.	60,2 kg
G.W.	m.	28 J.	75,0 kg
W.L.	m.	25 J.	80,5 kg

Die drei erstgenannten ernährten sich vor Beginn der Versuche normal, während die Vp. W.L. Fett hauptsächlich in Form von Margarine und pflanzlichen Ölen zu sich genommen hatte.

Die Blutentnahmen erfolgten aus der Vena cubitalis, nachdem die Versuchspersonen über Nacht 10 bis 12 Std. nüchtern geblieben waren.

4. Diätformeln

- I) Zwei Versuchspersonen (D.S. und W.L.) erhielten sechs Tage lang eine fett- und eiweißarme, kohlenhydratreiche Nahrung, die aus SONANA⁺, Traubenzucker, Johannisbeersaft, Reis, Äpfeln, Brot und geringen Mengen Butter bestand. Die Nährstoffe wurden in einer Relation von

Protein : Fett : KH = 6 : 24 : 70 (in Cal%)

zusammengestellt (38) und enthielten insgesamt 2020 Cal pro die.

- II) Die Normalpersonen K.K. und W.L. ernährten sich 21 Tage lang von einer ähnlichen Diät, deren tägliche Zusammensetzung von Protein, Fett und Kohlenhydraten anteilmäßig um einen Mittelwert von 7 : 19 : 74 Cal% schwankte (38). Die Kalorienmenge betrug im Durchschnitt 2840 Cal pro die. Nach diesen Forderungen wurden abgewogene Mengen von SONANA⁺, Traubenzucker, Kartoffeln, Reis, Spaghetti, Gemüse, Brot, Butter, Konfitüre, Obst und Obstsäften gegeben.

- III) Die beiden Versuchspersonen G.W. und W.L. ernährten sich 25 Tage lang von einer kohlenhydratangereicherten, praktisch fettfreien Diät, die in Anlehnung an AHRENS und Mitarbeiter (39) berechnet wurde. Die Basisdiät hatte zwei einander ähnliche Zusammensetzungen. Vom ersten bis zum sechzehnten Tag wurde dreimal täglich ein mit Wasser angerührtes Gemisch von Dextro-

+ Die vom Hersteller (Fa. HUMANA, Herford) angegebene Analyse der Trockensubstanz: Fett 15%; Eiweiß 25%; reduzierende Zucker 34%; Stärke 10%; Amylosen 6%; Rohfaser 0,4%; Kakaobestandteile 3%; Mineralstoffe 4%. 100 g SONANA enthalten - 455 Cal. Vitamingehalt in 100 g Pulver: Vit. A 1500 I.E.; Vit. B₁ 0,4 mg; Vit. B₂ 0,4 mg; Nikotinsäure 4,0 mg; Vit. B₆ 0,6 mg; Vit. B₁₂ 0,001 mg; Vit. C 60 mg; Vit. D₃ 100 I.E.; Vit. E 10 mg; Panthenol, Rutin und Folsäure liegen in biologischer Bindung vor.

pur und PROTENUM⁺, einem industriell hergestellten, kohlenhydratangereicherten Milchpulver, gegeben. Außerdem wurde ein Linsengericht pro Tag und Obst ad libitum erlaubt. Die genaue Zusammensetzung der Diät (Berechnung der Kalorien (38)):

KH	441,3 g	=	1760 Cal	=	75,0 Cal%
Protein	134,0 g	=	536 Cal	=	22,7 Cal%
Fett	6,0 g	=	54 Cal	=	2,3 Cal%

2350 Cal = 100,0 Cal%

Vom siebzehnten Tag an ernährten sich die Versuchspersonen von fünfmal täglich eingenommenen Aufschwemmungen von 80 g Dextropur in Wasser und wahlweise einem Kartoffelgericht mit 200 g gekochtem, fettarmem Fisch (Kabeljau) als Beilage oder einem Linsengericht; ferner Obst ad lib.

Im einzelnen:

KH	488,8 g	=	1950 Cal	=	86,4 Cal%
Protein	72,1 g	=	288 Cal	=	12,8 Cal%
Fett	2,1 g	=	19 Cal	=	0,8 Cal%

2257 Cal = 100,0 Cal%

Da die beiden Versuchspersonen viel Obst gegessen haben, wurde auf die zusätzliche Gabe von Vitamintabletten verzichtet. So dürfte der in diesem Fall besonders wichtige Bedarf an Biotin durch Orangen gedeckt worden sein, da 1 kg eßbaren Anteils an Orangen 0,019 mg, 1 kg Bananen 0,046 mg Biotin enthält (38).

+ Die vom Hersteller (MEAD JOHNSON Laboratories, Brüssel) angegebene Analyse: Fett 2%; Eiweiß 42%; Kohlenhydrate 46%; Mineralien 7%. 100 g PROTENUM enthalten 370 Cal. Vitamin-gehalt in 100 g Pulver: Vit.A 2000 I.E.; Vit.D 200 I.E.; Vit. B₁ 0,6 mg; Vit. B₂ 0,6 mg; Nikotinsäure 6 mg; Vit.C 25 mg.

II. Methoden

1. Lipoidextraktion

Als Ausgangspunkt aller in dieser Arbeit durchgeführten Lipoidanalysen wurde die von SPERRY (40) mitgeteilte Methode zur Herstellung von Lipoidextrakten aus Serum verwendet, die ursprünglich auf Experimente von FOLCH und Mitarbeiter (41) zurückgeht. Das Prinzip dieses Verfahrens besteht in einer Extraktion der zu untersuchenden Lipide mit Chloroform-Methanol 2:1 (v/v) und in einer Reinigung des Chloroform-Methanol-Gemisches von nichtlipoiden Beimengungen wie z.B. Aminosäuren, Peptiden, Kohlenhydraten und anorganischen Salzen. Letzteres geschieht mit einer 0,02 %igen wässrigen Calciumchloridlösung, die gleichzeitig eine Phasentrennung in eine obere Wasser-Methanol-Schicht (mit den genannten "Verunreinigungen") und in eine untere lipoidhaltige Chloroformphase bewirkt. - Alle verwendeten Reagenzien waren von p.a.Qualität.

2. Quantitative Cholesterin-Bestimmung

Aus der unteren Phase eines Folch-Sperry-Extraktes wurde das Gesamtcholesterin nach ZAK und Mitarbeitern (42) photometrisch ermittelt. Diese Technik basiert auf einem Farbkomplex, den das Cholesterin mit Eisen-III-Chlorid, Eisessig und Schwefelsäure bildet (sog. Lifschütz-Reaktion). Diese Reaktion ist die empfindlichste und stabilste aller Farbreaktionen des Cholesterins und somit die Methode der Wahl für derartige Untersuchungen. Sie erfaßt neben dem freien allerdings auch das veresterte Cholesterin, so daß bei der Bestimmung des freien Cholesterins dieses zunächst durch Digitoninfällung isoliert werden muß. Die Menge des Estercholesterins erhält man als Differenz aus Gesamt- und freiem Cholesterin.

3. Dünnschichtchromatographie

Die Dünnschichtchromatographie hat sich als eine leistungsfähige Methode für die Trennung von lipoiden Substanzen und

hydrophilen Verbindungen erwiesen. STAHL und Mitarbeiter berichteten darüber in mehreren Veröffentlichungen (43-51). Neben guter Trennschärfe und weitem Beladungsbereich, der sowohl präparative Analysen bei maximalen Beladungen als auch analytisches Arbeiten bei minimalen Substanzmengen gestattet, bietet dieses Verfahren den Vorteil geringen Zeitaufwandes. So kann man beispielsweise direkt vom Lipoidextrakt ausgehen, ohne daß eine Vortrennung notwendig wäre.

a) Die Dünnschichtchromatographische Untersuchung der Cholesterinester

Diese Untersuchung erfolgte nach ZÖLLNER und Mitarbeiter (52,53,54,55). Als Adsorptionsmittel dient das von STAHL und Mitarbeiter (43) entwickelte Kieselgel G der Firma Merck, Darmstadt. Es wird in 0,25 mm dünnen Schichten auf 200 x 38 mm große Glasplatten aufgetragen. Das technische Zubehör liefert die Firma Desaga, Heidelberg, als sog. Grundausrüstung für die Dünnschichtchromatographie nach STAHL (51).

Durchführung:

1 ml der Chloroformphase eines Lipoidextraktes wird konzentriert und ein aliquoter Teil davon auf die Dünnschicht aufgetragen. Es ist dabei zu beachten, daß die Farbintensität des entwickelten Chromatogrammes nur bis zu einem gewissen Grade der aufgetragenen Menge proportional ist. Diese Beziehung (und damit die aufzutragende Menge) ist definiert in der mathematischen Funktion $y = \frac{1,6}{x}$ (y = Menge des eingeengten Lipoidextraktes, x = Cholesteringehalt des Serums). Graphisch dargestellt, entspricht diese Formel dem Ast einer rechtwinkligen Hyperbel. Aus dieser Kurve wird die aufzutragende Menge des eingeengten Lipoidextraktes abgelesen.

Die mit Substanz beschickten Dünnschichten werden unter zwischenzeitlichem Abdampfen dreimal aufsteigend in Kammern chromatographiert, die mit Tetrachlorkohlenstoff als Fließmittel gesättigt sind. Die Chromatogramme besprüht man gleichmäßig mit einer täglich zubereiteten Lösung von 25 %igem Antimontri-

chlorid in Chloroform. Nach kurzem Erhitzen auf 110°C werden fünf verschieden intensiv blauviolett gefärbte, scharf voneinander getrennte Banden sichtbar. Es sind die Fraktionen der Cholesterinester, die nach dem Grad ihrer Ungesättigtheit unterschiedliche R_F -Werte haben (siehe Abb. 1).

b) Quantitative Auswertung der Chromatogramme

Diese Methode wurde von ZÖLLNER, WOLFRAM und AMIN (55) beschrieben. Sie besteht im wesentlichen a) in der direkten Messung der den einzelnen Esterfraktionen entsprechenden Farbflecken mit Hilfe eines registrierenden Photometers, b) der

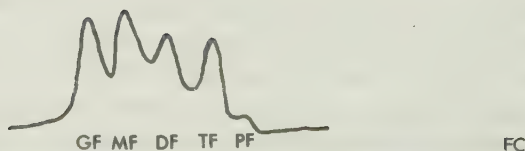


Abb. 1 Charakteristisches Dünnschichtchromatogramm der Serum--
Cholesterinester eines Neugeborenen mit dazugehöriger
Planimeterkurve. Die Fraktionen enthalten folgende Fett-
säuren: GF gesättigte Fettsäuren, MF einfach ungesät-
tigte Fettsäuren, DF zweifach ungesättigte Fettsäuren,
TF drei- und vierfach ungesättigte Fettsäuren, PF noch
höher ungesättigte Fettsäuren, FC freies Cholesterin.

planimetrischen Bestimmung der Flächen unter der Photometerkurve (siehe Abb. 1) und c) der Berechnung der relativen Anteile der einzelnen Fraktionen. Unter Berücksichtigung der den Versuchsbedingungen entsprechenden Korrekturfaktoren erhält man gut reproduzierbare Werte (56).

4. Gaschromatographie

Auf allgemeine apparative Fragen der Gaschromatographie und auf theoretische Probleme des Trennvorganges soll im Rahmen dieser Arbeit nicht eingegangen werden. An dieser Stelle sei nur auf die einschlägige Literatur verwiesen (57,58,59).

Bei der gaschromatographischen Bestimmung der Fettsäuren aus Cholesterinestern und Phosphatiden wurde in folgenden Schritten gearbeitet: a) Aus einem Polch-Sperry-Extrakt wurden die Cholesterinester oder die Phosphatide von den verbleibenden Serumlipoiden über Florisil- bzw. Kieselgelsäulen abgetrennt. b) Die Cholesterinester oder Phosphatide wurden methylierstert und c) mit Hilfe eines Gaschromatographen analysiert. d) Nach Hydrierung und erneuter Gaschromatographie wurden e) die Anteile der einzelnen Fettsäuren in Relativ-Prozenten berechnet.

a) Säulenchromatographische Isolierung der Cholesterinester

Es wurde modifiziert die von CARROLL (60) veröffentlichte Methode zur Trennung von Lipoidklassen aus Serum und Leberhomogenaten verwendet. Als Säulenfüllung diente Florisil 60-100 mesh, ein Magnesium-Silicat (Fa. C.Roth, Karlsruhe). Dieses Verfahren hat allerdings einen Nachteil; Phosphatide können nicht aus der Säule eluiert werden. Dies konnte bei der Analyse der Seren aus Nabelschnurblut ignoriert werden, weil hierbei die quantitative Isolierung der Cholesterinester von ausschließlichem Interesse war.

Durchführung:

Ein Chromatographierohr (Abmessungen: 250 x 16 mm) wird nach

HIRSCH und AHRENS angeordnet (61). In dieses System schlemmt man 15 g nicht desaktiviertes Florisil ein, das mit Petroläther verrührt wurde. Durch mehrmaliges Schütteln mit Petroläther (Kp. 50 - 70° Riedel-DeHaen) ist dafür zu sorgen, daß die Füllung kompakt ist, d.h. im Florisil keine Luftblasen oder Risse entstehen. Man wäscht die Säule mit ca. 100 ml Petroläther durch, bis das Lösungsmittel gerade die Oberfläche des Florisils erreicht hat. Das Konzentrat eines Folch-Sperry-Extraktes wird nun quantitativ auf die Säule überführt, ohne daß dabei das Adsorptionsmittel aufgewirbelt werden darf. Die Eluierung vollzieht sich bei einer Durchflußgeschwindigkeit von 100 bis 150 ml/Std. nach dem Schema in Tabelle 1.

Fraktion	Lösungsmittelsystem	Menge(ml)	Eluierte Komponenten
I	Petroläther	100	Kohlenwasserstoffe
II	4% Äther in Petroläther	300	Cholesterinester, Methylester lang- kettiger Fettsäuren
III			
IV			
V	50% Äther in Petroläther	100	Triglyceride, freie Fettsäuren, freies Cholesterin

Tab. 1 Eluierungsschema zur Abtrennung der Cholesterinester bzw. der Fettsäuremethylester von anderen Lipidbestandteilen eines Sperry-Extraktes.

Die Einheitlichkeit der Lipoidfraktionen wird dünnschicht-chromatographisch (54) kontrolliert. Dazu werden 1 bis 2 ml der erhaltenen Fraktionen konzentriert und auf 200 x 200 mm große, mit Aceton entfettete und mit Kieselgel G beschichtete Glasplatten aufgetragen. Die so präparierten Dünnschichten chromatographiert man einmal aufsteigend mit Fließmittel B,

einem Gemisch aus Petroläther, Methyläthylketon und Eisessig 95:4:1 (v/v/v). Die Chromatogramme besprüht man mit 50 %iger Schwefelsäure und erhitzt sie auf 160°. Es ergibt sich, daß die Fraktion II (evtl. auch III) die Cholesterinester enthält, während erst bei Fraktion V die in der Tabelle 1 genannten Komponenten erscheinen. Die Fraktion IV sollte keine Substanz enthalten (siehe Abb. 2).

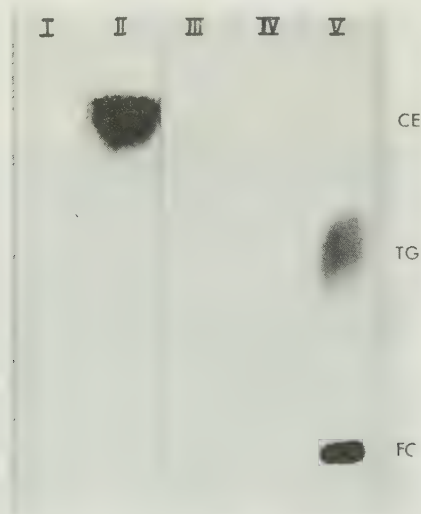


Abb. 2 Dünnschichtchromatogramm der Fraktionen I bis V einer Isolierung von Cholesterinestern aus Serumlipoidextrakt.
CE Cholesterinester, TG Triglyceride, FC freies Cholesterin.

b) Umesterung der Cholesterinester

Nach EBERHAGEN (62) wird die eingeengte Cholesterinester-Fraktion in 10 ml Methylacetat gelöst und mit 20 ml einer

5 %igen wasserfreien methanolischen Salzsäure versetzt. Eventuell auftretende Trübungen verschwinden beim Kochen im Rückfluß (1 1/2 bis 2 Stunden bei 70°). Nach Abkühlen werden die Lipide durch Äther-Petroläther 1:1 (v/v) der Lösung entzogen, mit Aqua dest. neutral gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Die eingeeengte Substanz trennt man erneut nach dem in der Tabelle 1 wiedergegebenen Schema über eine Florisil-Säule. Auch hierbei erfolgt eine Kontrolle des Trennvorganges mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie (siehe Abb. 3).

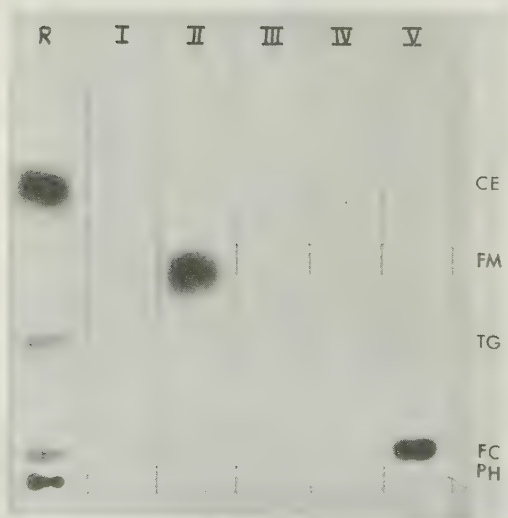


Abb. 3 Dünnschichtchromatogramm von Fettsäuremethylestern der Serumcholesterinester.

R Referenz-Serum neben den Fraktionen I bis V, CE Cholesterinester, FM Fettsäuremethylester, TG Triglyceride, FC freies Cholesterin, PH Phosphatide.

c) Säulenchromatographische Abtrennung der Phosphatide

Die eingeengte untere Phase eines Lipoidextraktes wird quantitativ in ein Chromatographierrohr (Länge: 10 cm, Durchmesser: 1 cm, Fließmittelvolumen: 100 ml) überführt, das zuvor mit aktiviertem Kieselgel (Mallinckrodt 100 mesh, Fa. Serva, Heidelberg) beschickt wurde. 1,1 g Kieselgelfüllung genügt, um die in 2 ml enthaltene Lipoidmenge zu trennen. Als Elutionsmittel für die nicht-Phosphor-haltigen Lipide wird 50 ml Chloroform, für die Phosphatide 50 ml Methanol benutzt. Nach einer dünn-schichtchromatographischen Kontrolle wird die isolierte Phosphatidfraktion nach einem von EBERHAGEN (63) angegebenen Mikroverfahren methylverestert, das im Prinzip der bei 4 b) genannten Methode entspricht.

d) Gaschromatographische Analyse der methylveresterten Fettsäuren

Auf eine umfassende Beschreibung der durchgeführten gaschromatographischen Untersuchung von Fettsäuren wird in dieser Arbeit verzichtet. Es sei jedoch auf die exakte Darstellung von Einzelheiten bei EBERHAGEN (64) hingewiesen.

Für die Trennung der Fettsäuren (als Methylester) von Neugeborenen diente das "Fraktometer 116 E" mit Flammenionisationsdetektor der Firma Bodenseewerk Perkin-Elmer & Co. GmbH, Überlingen. Das mit einem Argondetektor ausgerüstete "Modell 840" der Firma Packard Instruments Co., USA, wurde für die während der Ernährungsversuche gewonnenen Serumlipoide verwendet. Als Säulenfüllung wurde in beiden Apparaturen 20% Bernsteinsäure-äthylenglykolpolyester auf Chromosorb, modifiziert nach CRAIG und MURPHY (65) hergestellt, benutzt. Wie alle polaren Phasen gewährleistet dieser Polyester eine vollständige Trennung der ungesättigten Fettsäuren gleicher Kettenlänge. Die Substanzen wurden als 1 bis 2 prozentige Lösung in Chloroform mit Mikroliterspritzen der Firma Hamilton Co., Whittier/Cal., USA, injiziert und nach den in Tabelle 2 angegebenen Betriebsbedingungen chromatographiert.

	"Fraktometer"	"Modell 840"
Säulentemperatur	195 - 200 °	195 °
Probenverdampfer	194 - 196 °	270 - 280 °
Detektortemperatur	195 - 200 °	210 °
Trägergas	Helium	Argon
Druckabfall längs d.Säule	0,8-1,0 kg/cm ²	1,5-1,7 kg/cm ²
Durchflußgeschwindigkeit	90 -105 ml/min	100-120 ml/min
Säulenabmessung	95 x 0,4 cm	180x0,4-0,6 cm

Tab. 2 Betriebsbedingungen für die Gaschromatographie

e) Hydrierung der Fettsäuremethylester

Nach EBERHAGEN (64) werden die $C = C$ - Doppelbindungen der in 5 ml Methanol gelösten Lipide in einem mit Wasserstoff gefüllten System (Hydrierapparatur nach EBERHAGEN) 1 bis 2 Stunden unter leichtem Rühren hydriert. Als Katalysator wird eine kleine Spatelspitze Palladiumkohle (zu beziehen bei der Fa. Fluka, Buchs/Schweiz) zugegeben. - Nach Filtrieren und Einengen wird jeweils ein zweites Gaschromatogramm mit hydrierter Substanz geschrieben.

f) Auswertung der Gaschromatogramme (64)

α) Qualitativ

Zur Identifizierung der einzelnen "peaks" zeichnet man auf logarithmisches Millimeterpapier die Retentionsvolumina der aus dem Chromatogramm leicht erkennbaren gesättigten Fettsäuren gegen die Anzahl ihrer C-Atome ein. Die Verbindungslinie zwischen den ermittelten Punkten ergibt nach JAMES und MARTIN (1) eine Gerade, auf der bestimmte Werte dem $\log R_v$ der übrigen Gipfel entsprechen. Aus einer bei ESTERHAGEN (64) angegebenen Tabelle können diese Werte mit den jeweils zugehörigen relativen Retentionsvolumina abgelesen und die Banden identifiziert werden.

β) Quantitativ

Zuerst werden die relativen Anteile der einzelnen hydrierten Substanzen ermittelt, und zwar aus den Flächeninhalten der Dreiecke, die aus den Wendepunktangenten und der Grundlinie der einzelnen "peaks" gebildet werden. Unter der Bedingung, daß die Substanzgemische im Chromatographen quantitativ verdampfen und alle enthaltenen Fettsäuren erkennbar registriert werden, wird die Summe aller Flächeninhalte gleich 100 % gesetzt. Man überträgt dann die relativen Anteile der Fettsäuren aus dem hydrierten Gemisch auf die entsprechenden bereits identifizierten Fettsäuregruppen des Nativchromatogramms und berechnet bei letzterem die prozentuale Verteilung der Säuren gleicher Kettenlänge, aber unterschiedlicher Anzahl an Doppelbindungen. Da die eingespritzte Substanzmenge nicht der Bandenhöhe gleichzusetzen ist, müssen bei der quantitativen Auswertung noch Korrekturfaktoren berücksichtigt werden (66).

5) Quantitative Bestimmung von Gesamtlipoiden, Lipoidphosphor, Cholesterin und Neutralfett

Die Gesamtlipoide wurden mit Hilfe der Sulfophospho-Vanillin-Reaktion nach ZÖLLNER und KIRSCH (67) ermittelt. Die Lipoidphosphor-Bestimmung erfolgte nach BARTLETT (68), die des Cholesterins - wie oben beschrieben - nach ZAK und Mitarbeiter (42). Das Neutralfett wurde berechnet (67).

D. E r g e b n i s s e

Die dünnstschichtchromatographischen Untersuchungen der Cholesterinester des Nabelschnurblutes stimmen gut mit den Befunden von ZÖLLNER und WOLFRAM (15) überein. Die Abbildung 4 sowie die Tabellen 3 und 4 zeigen erneut die für das Neugeborene

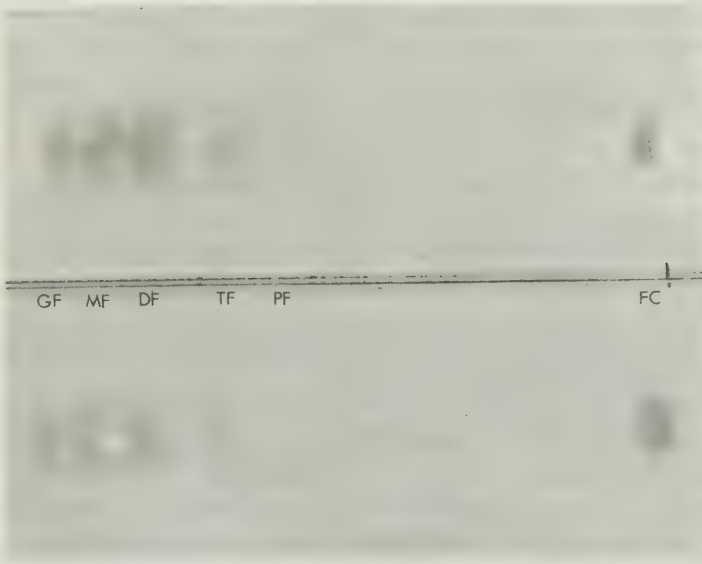


Abb. 4 Dünnschichtchromatogramme von Serumcholesterinestern
des Neugeborenen (unten) und des Erwachsenen (oben).
Abkürzungen siehe Abb. 1

als typisch erkannte Verminderung der Dienfraktion gegenüber einer Vermehrung der Tri- und Tetraenfraktion. Im Vergleich zum Erwachsenen sind ebenfalls Gesamt-, freies und Estercholesterin erniedrigt (Tab. 4). Das prozentuale Verhältnis von Cholesterinestern zum Gesamt-Cholesterin, der sog. Esterquotient (69), ist dagegen nicht in allen Proben im Normbereich von 63 bis 75%, wie ZÖLLNER und WOLFRAM (15) gefunden hatten.

Fall	GF	MF	DF	TF	PF	Gesamt-Cholesterin mg %	Freies Cholesterin mg %	Ester-quotient
E.S.	23,9	30,8	22,2	23,1	-	68,9	14,4	79
E.F.	22,8	31,4	26,6	18,2	1,0	69,2	22,4	68
B.S.	22,4	24,9	25,9	24,4	2,4	61,2	8,1	87
E.T.	24,6	31,9	20,5	21,9	1,1	93,8	18,5	80
F.B.	28,6	35,2	19,9	14,9	1,4	93,0	23,1	75
S.H.	24,0	33,1	20,3	21,3	1,3	60,6	14,7	76
W.K.	24,7	27,9	23,2	22,1	2,1	71,6	30,1	58
I.S.	22,6	37,2	18,3	20,9	1,0	61,7	25,7	58
T.H.	22,9	29,1	22,7	23,0	2,3	72,2	25,6	64
I.A.	22,0	28,1	24,9	23,3	1,7	54,7	21,4	61
A.S.	21,9	30,1	24,6	21,6	1,8	100,0	27,9	72
L.H.	20,9	29,9	26,9	20,0	2,3	66,9	27,2	59
M.N.	21,3	29,1	26,8	20,3	2,5	82,2	33,7	59
I.G.	23,7	29,1	23,3	22,3	1,6	112,4	43,4	61
L.E.	23,7	28,2	27,3	18,9	1,9	125,0	48,8	62
M.S.	17,3	27,0	22,5	28,7	4,5	104,4	38,6	65
H.S.	20,0	27,3	26,6	23,6	2,5	101,5	41,9	59
M.A.	25,2	23,7	25,6	23,2	2,3	67,0	15,4	77

22,9 29,7 23,7 21,8 1,9 = Durchschnitt ($\bar{x}$)

$\pm 0,6 \pm 0,8 \pm 0,7 \pm 0,7 \pm 0,2$ = Standardabweichung des Durchschnitts (σ_x)

2,4 3,4 2,8 2,9 2,8 = Standardabweichung (σ)

Tab. 3 Dünnschichtchromatographische Analyse des Gesamtcholesterins, des freien Cholesterins und der Cholesterinfraktionen (in Prozenten der gesamten Ester) im Serum von Neugeborenen (n=18).
Abkürzungen siehe Abb. 1

	n	GF	MF	DF	TF	PF
Neugeborene (eigene Untersuchungen)	18	22,9 ± 0,6	29,7 ± 0,8	23,7 ± 0,7	21,8 ± 0,7	1,9 ± 0,2
Neugeborene (15)	9	24,8 ± 0,8	32,4 ± 0,7	23,4 ± 1,0	18,1 ± 0,7	1,3 ± 0,2
Erwachsene (15)	14	16,1 ± 0,5	23,6 ± 0,5	46,7 ± 0,7	11,8 ± 0,5	2,0 ± 0,5

Tab. 4 Vergleich der Mittelwerte ($\bar{x}$) der Serum-Cholesterinester
(in Prozenten der gesamten Ester) der Neugeborenen mit
denen der Erwachsenen. Abkürzungen siehe Abb. 1

Die detaillierte gaschromatographische Auftrennung der fetalen Cholesterinester in Fettsäure-Individuen ergab (siehe Tab. 5 und Abb. 5), daß die Verminderung der Dienfettsäuren auf Kosten der Linolsäure zustande kommt und die Vermehrung der Tri- und Tetrenfraktion durch einen signifikanten Anstieg der Arachidonsäure bewirkt wird. (Letzteres ist durch das chromatographische Verhalten nach der Hydrogenierung sowie durch Zusatz einer authentischen Methylesterprobe bewiesen.) Die relativen Konzentrationen der Linolsäure betrugen ein Drittel des Wertes bei Erwachsenen, die der Arachidonsäure machten etwa das Doppelte des Erwachsenenwertes aus. Diese Relationen ließen sich auch bei den Phosphatid-Fettsäuren des Nabelschnurblutes (70) nachweisen.

		Eigene Werte												Neugeborene
		14:0	15:0	16:0	16:1	17:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:3	20:4	20:5	
Neugeborene	1	1,5	-	20,0	9,3	-	2,5	30,6	20,4	+	+	15,2	-	-
	2	0,9	-	18,9	12,8	-	1,8	32,7	21,5	+	+	11,4	-	-
	3	1,0	-	18,9	15,0	0,7	2,0	33,8	18,0	+	+	10,9	-	-
	4	1,2	-	21,5	14,1	0,4	2,2	33,8	17,8	+	+	8,5	-	-
Erwachsene	K.K.	1,0	0,3	13,5	4,0	0,4	1,1	24,8	45,6	1,2	1,3	6,0	0,8	-
	G.W.	1,3	0,5	13,0	5,2	0,8	0,6	27,8	43,8	+	0,5	5,8	0,4	-
	W.L.	1,6	0,4	10,4	3,0	+	0,5	18,9	56,9	+	-	8,3	+	-
	HALLGREN et al. (72) (n=7)	1,4	0,6	11,0	4,8	1,1	0,8	23,2	46,2	2,1	-	5,9	1,8	0,6
		1,1 ± 0,1	-	12,1 ± 0,6	6,8 + 0,6	-	2,6 ± 0,2	18,9 ± 0,7	47,1 + 1,0	0,9 ± 0,1	5,0 ± 0,5	1,4 + 0,2		
		SCHRADE et al. (73) (n=16)												

Tab. 5 Gaschromatographische Analyse der Fettsäuren der Serumcholesterinester⁺ von Neugeborenen und Erwachsenen. (Werte in Prozenten der gesamten mit Cholesterin veresterten F.S. Berechnung vor und nach Hydrogenierung).

+ Die Kennzeichnung der Fettsäuren erfolgt nach DOLE et al. (71). Die Zahl der C-Atome ist dabei vor, die der Doppelbindungen hinter dem Doppelpunkt angegeben.

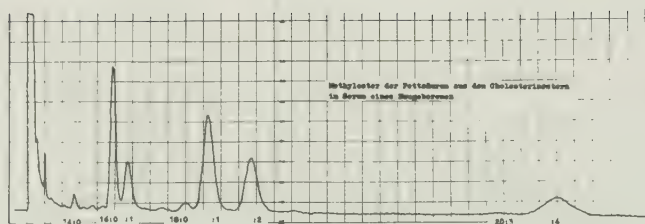


Abb. 5 Gaschromatogramm der Fettsäure-Methylester aus den Cholesterinestern im Serum eines Neugeborenen.

Die dünnschichtchromatographischen Untersuchungen der Nabelschnurseren waren Ausgangspunkt für vergleichende Untersuchungen von 28 Säuglingen und Kindern bis zu 9 Jahren. Die Analysen zeigen mit zunehmendem Alter relativ und absolut ein stetiges Ansteigen der Dienfettsäuren (DF-Fraktion), die am Ende des zweiten Lebensjahres Werte des Erwachsenen erreichen (siehe Abb. 6 und 7). Bei der im Nabelschnurblut relativ erhöhten TF-Fraktion (Abb. 6) kommt es dagegen innerhalb der ersten Lebenswochen zu einem relativen Abfall auf Werte, die denen des Erwachsenen entsprechen und auch weiterhin konstant

bleiben. Das Verhalten von Gesamt-, Freiem und Estercholesterin ist in Tabelle 6 zusammengefaßt und zeigt - wie zu erwarten - stark streuende Werte. Die Ester-Quotienten sind im Bereich der Norm. - Einige in Abb. 6 besonders markierte relative DF-Werte liegen besonders hoch. Sie zeigen die bei Säuglingen gesteigerte Resorption ungesättigter Fettsäuren (Literatur bei LUTHER und SCHREIER (74)). Dies wird besonders deutlich bei einem Säugling (H.O.), der eine mit Baumwollsaatöl versetzte Halb- bzw. Zweidrittel-Milch bekam (siehe Tabelle 7) und innerhalb der ersten Lebenswochen einen wesentlich schnelleren Anstieg der DF-Fraktion hatte. Auch die TF-Fraktion stieg von der 5. bis zur 11. Lebenswoche von 4,6 auf 11,4% an. Ein gleichaltriges Kontrollkind (A.D.) wurde mit normaler Kost ernährt und zeigte diese Veränderungen nicht (siehe Tabelle 7).

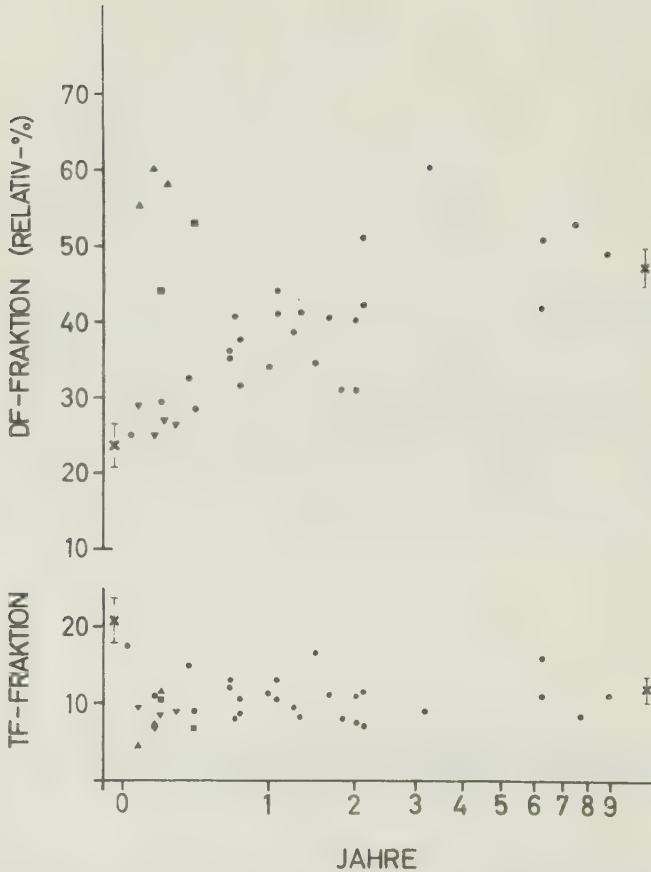


Abb. 6 Das Verhalten der Cholesterinester der essentiellen Fettsäuren (in Prozenten der gesamten Ester) während der Säuglings- und Kleinkindszeit. Abkürzungen siehe Abb. 1

● Befunde bei Kindern ohne genaue Ernährungsanamnese,
■ Brustkinder, ▲ Halbmilch mit Zusatz von Baumwoll-
saatöl, ▼ Halbmilch ohne Zusatz, × Durchschnittswerte
± 1 σ im Nabelschnurvenenblut bzw. beim Erwachsenen.

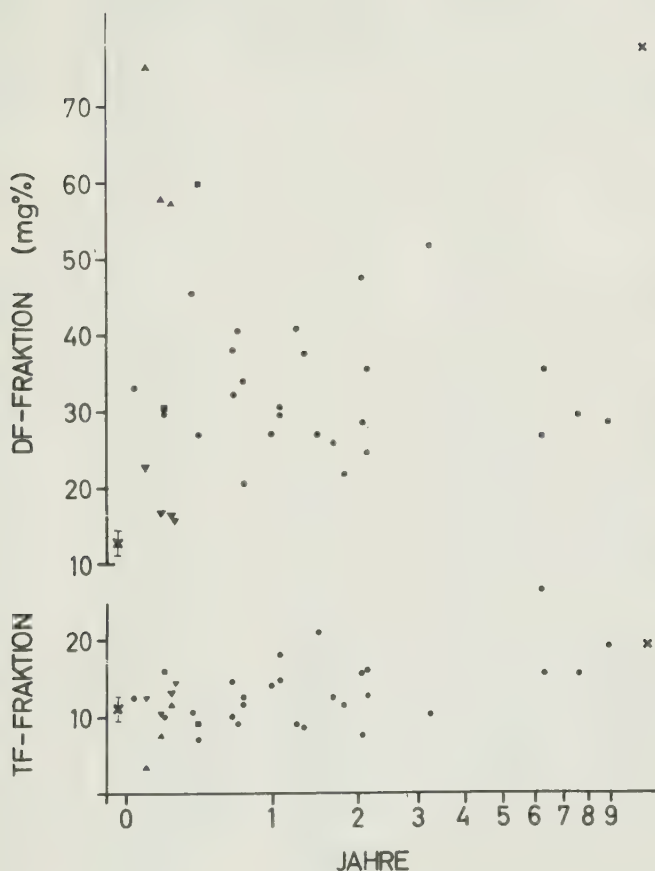


Abb. 7 Die Konzentration der Cholesterinester der essentiellen Fettsäuren (in mg%) während der Säuglings- und Kleinkindszeit. Abkürzungen siehe Abb. 1

● Befunde bei Kindern ohne genaue Ernährungsanamnese,
 ■ Brustkinder, ▲ Halbmilch mit Zusatz von Baumwoll-
 saatöl, ▼ Halbmilch ohne Zusatz, × Durchschnittswerte
 ± 1 σ im Nabelschnurvenenblut bzw. beim Erwachsenen.

Fall	Alter	Gesamt- Cholesterin (in mg%)	Freies Cholesterin (in mg%)	Ester- Cholesterin (in mg%)	Ester- Quotient (in %)
C.R.	12 Tage	116,0	40,0	76,0	65
C.B.	10 Woch.	155,3	57,7	97,6	63
J.D.	2 1/2 Mon.	197,5	55,8	141,7	72
A.L.	4 1/2 Mon.	101,5	29,7	71,8	71
G.M.	5 Mon.	155,0	51,7	103,3	67
T.E.	5 Mon.	130,4	41,6	88,8	68
C.G.	8 Mon.	145,8	53,8	92,0	63
C.J.	8 Mon.	152,8	39,4	113,4	74
M.M.	8 1/2 Mon.	161,5	61,8	99,7	62
S.P.	9 Mon.	150,0	41,0	109,0	73
P.U.	9 Mon.	239,0	91,0	148,0	62
R.S.	12 Mon.	180,0	55,2	125,8	70
T.B.	1 1/12 Jahr	202,0	64,0	138,0	68
R.S.	1 1/12 Jahr	206,0	61,0	145,0	70
V.B.	1 3/12 Jahr	152,3	57,8	94,5	62
W.B.	1 4/12 Jahr	161,7	53,9	107,8	67
C.W.	1 6/12 Jahr	181,5	54,7	128,8	70
P.W.	1 8/12 Jahr	173,0	60,5	112,5	65
W.B.	1 10/12 Jahr	220,0	78,5	141,5	65
H.W.	2 1/12 Jahr	219,0	75,3	143,7	66
F.D.	2 1/12 Jahr	144,0	37,0	107,0	74
C.A.	2 2/12 Jahr	216,5	70,3	146,2	68
H.P.	2 2/12 Jahr	172,5	52,0	120,5	70
G.S.	3 3/12 Jahr	205,0	90,0	115,0	72
E.L.	6 3/12 Jahr	244,0	78,0	166,0	68
B.K.	6 4/12 Jahr	210,8	69,0	141,8	67
H.L.	7 8/12 Jahr	246,0	68,0	178,0	72
E.W.	9 Jahre	249,0	78,8	170,2	68

Tab. 6 Gesamt-, freies und Estercholesterin aus Seren von
28 Säuglingen und Kindern (bis zu 9 Jahren).

Alter (Lebenswochen)	Fettsäuren (Relativ-%)	H.O. (Baumwollsaatöl- Zusatz)	A.D. (Kontrolle)
5	GF	17,1	22,6
	MF	21,4	37,5
	DF	55,6	28,1
	TF	4,6	9,9
	PF	1,3	1,9
9	GF	14,0	24,9
	MF	18,4	41,0
	DF	60,0	25,7
	TF	7,6	6,8
	PF	+	1,6
11	GF	12,4	23,5
	MF	16,8	39,6
	DF	58,2	27,3
	TF	11,4	7,9
	PF	1,2	1,7
13	GF	-	25,0
	MF	-	37,9
	DF	-	26,7
	TF	-	8,5
	PF	-	1,9

Tab. 7 Dünnschichtchromatographische Analysen der Fett-
säuren der Serum-Cholesterinester bei zwei ver-
schieden ernährten Säuglingen (H.O. und A.D.)
Abkürzungen siehe Abb. 1. Werte in Prozenten der
gesamten Ester.

Die Ergebnisse der Ernährungsversuche sind unterschiedlich.

I. Versuch: In diesem sechs Tage dauernden Experiment (mit einer fett- und eiweißarmen, kohlenhydratreichen Diät; genaueres siehe Seite 11) veränderte sich die Zusammensetzung der Cholesterinester nicht; beim Vergleich der quantitativen Bestimmung von Gesamt-, Freiem und Estercholesterin zeigt sich eine geringgradige Verminderung am Ende des Versuches. Der Esterquotient blieb gleich (siehe Tabelle 8). -

II. Versuch: Um den Einfluß der Zeit auf eine evtl. diätetisch zu erzeugende Veränderung der Cholesterinester zu erkennen, wurde zwei weiteren Versuchspersonen (K.K. und W.L.) eine entsprechende Nahrung (siehe Seite 11) für die Dauer von drei Wochen gegeben. Die Dünnschichtchromatographie (siehe Tabelle 9) macht auch hier keine signifikanten Veränderungen der Cholesterinester sichtbar, während die gaschromatographische Analyse (siehe Tabelle 10) im Fall W.L. eine Verminderung der anfangs sehr hohen Linolsäurewerte ergibt. Bei K.K. ist Anfangs- und Endwert nahezu gleich.

Versuchsperson		D.S.		W.L.	
Zeit der Analyse		prae	post	prae	post
Ges. Cholesterin mg%		250	247	150	131
Freies Chol. mg%		77	80	46	39
Ester-Chol. mg%		173	167	104	92
Esterquotient in %		69	68	70	71
Fettsäuren	GF	12,8	15,0	12,9	15,6
	MF	17,9	21,8	21,0	23,7
	DF	57,1	51,0	57,0	52,3
	TF	10,6	10,5	9,1	8,4
	PF	1,6	1,7	0	0

Tab. 8 Dünnschichtchromatographische Analysen des Serumcholesterins und der Fettsäurezusammensetzung der Serumcholesterinester (in % d. ges. Ester) bei fett- und eiweißarmer Diät (Ernährungsversuch I.)
Abkürzungen siehe Abb. 1

Versuchsperson	K.K.		W.L.	
Zeit der Analyse	prae	post	prae	post
Ges.Cholesterin mg%	235	274	157	160
Freies Chol. mg%	75	81	44	44
Ester-Chol. mg%	160	193	113	116
Esterquotient in %	68	70	71	72
Fettsäuren GF	15,8	14,8	15,0	14,6
MF	23,0	25,5	22,0	24,0
DF	47,6	48,8	47,7	50,4
TF	12,2	10,4	13,7	10,1
PF	1,4	1,5	1,6	0,9

Tab. 9 Dünnschichtchromatographische Analyse des Serumcholesterins und der Fettsäurezusammensetzung der Serumcholesterinester (in Prozenten der gesamten Ester) nach dreiwöchiger fett- und eiweißarmer Diät. (Ernährungsversuch II)
Abkürzungen siehe Abb. 1

Versuchsperson	K.K.		W.L.	
Zeit der Analyse	prae	post	prae	post
14:0	1,0	1,3	1,6	1,1
15:0	0,3	0,5	0,4	0,4
16:0	13,5	13,1	10,4	15,9
16:1	4,0	5,0	3,0	5,0
16:2	+	+	-	0,8
17:0	0,4	0,7	+	0,7
18:0	1,1	0,8	0,5	0,8
18:1	24,8	26,1	18,9	26,0
18:2	45,6	43,2	56,9	41,3
19:0	1,2	1,4	+	1,6
18:3	1,3	+	+	1,0
20:4	6,0	6,0	8,3	4,7
20:5	0,8	1,9	+	0,7

Tab. 10 Gaschromatographische Analyse der Fettsäuren
der Serum-Cholesterinester nach dreiwöchiger
fett- und eiweißarmer Diät (Ernährungsversuch II).
Werte in Prozenten der gesamten mit Cholesterin
veresterten FS. Berechnung vor und nach Hydrogenie-
rung.

Als Erklärung für diese erfolglosen Vorversuche bieten sich einerseits die Angaben des amerikanischen "Food and Nutrition Board" (75) an, nach denen bei einem Fettanteil von ca. 20 Cal% in der Nahrung eine ausreichende Zufuhr von essentiellen Fettsäuren gewährleistet ist; zum anderen war der Gesamtfettgehalt dieser Diätformeln sicher noch zu hoch. Bei der Diskussion bleiben diese Versuche unberücksichtigt.

III. Versuch: Die einseitige Ernährung wurde von den Versuchspersonen G.W. und W.L. relativ gut vertragen. Eine dritte Person mußte nach zwei Tagen den Versuch wegen starken Brechdurchfalls und erheblichen Krankheitsgefühls abbrechen. Die gleiche Symptomatik in gemilderter Form boten auch die beiden Versuchspersonen. Sie klagten über Meteorismus, durchfallartige Darmentleerungen und Inappetenz; diese Beschwerden beeinträchtigten jedoch nicht ihre normale Leistungsfähigkeit im Berufsleben. Dieses und die Gewichtskonstanz sind Beweise für eine kalorisch ausreichende Ernährung. Das Körpergewicht der beiden, jeden zweiten Tag kontrolliert, sank bei G.W. während der Versuchsdauer von 75,0 kg auf 74,6 kg; bei W.L. lag das Gewicht am 25. Tag mit 79,5 kg um 1 kg unter dem Anfangsgewicht von 80,5 kg. Während des Versuchs wurden Schwankungen von ± 1 kg um das Anfangsgewicht festgestellt.

Das Verhalten der "großen Lipoidfraktionen" aus den Seren der Versuchspersonen G.W. und W.L. ist in den Abbildungen 8 und 9 graphisch dargestellt und zeigt einen bei beiden fast übereinstimmenden Verlauf. Von den Ausgangswerten im Bereich der Norm sanken Gesamtcholesterin, Cholesterinester, freies Cholesterin und Phosphatide bis zum 7. Tag schnell ab, um danach annähernd gleichzubleiben (bei G.W.) oder gering anzusteigen (bei W.L.). Auffällig ist jedoch bei beiden ein Ansteigen der Neutralfette nach 7 (bei G.W.) bzw. 14 Tagen (bei W.L.).—

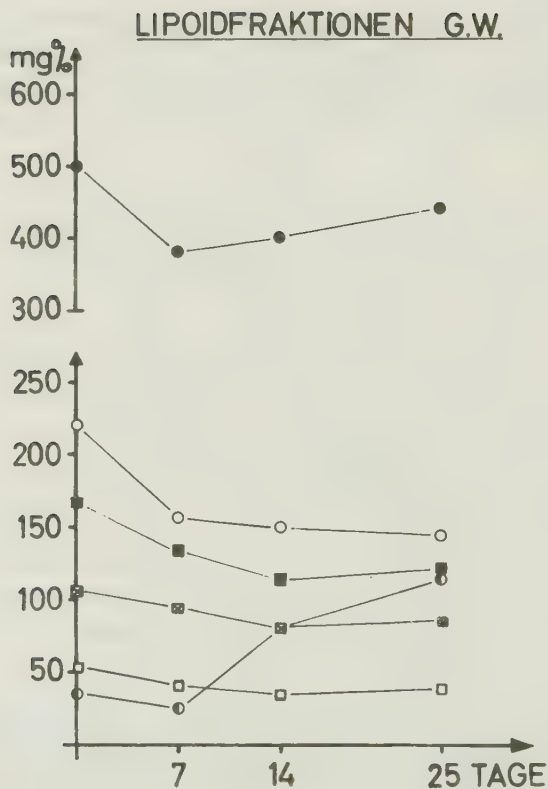


Abb. 8 Verhalten der großen Lipoidfraktionen nach Umstellung auf fettarme, kohlenhydratreiche Kost bei der Versuchsperson G.W.

● Gesamtlipide, ○ Phosphatide, ■ Gesamtcholesterin, ■ Cholesterinester, □ freies Cholesterin, ● Neutralfett.

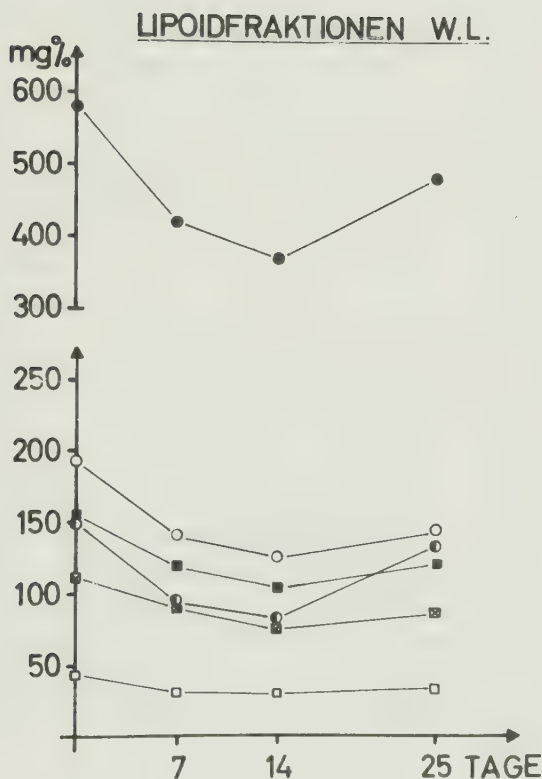


Abb. 9 Verhalten der großen Lipoidfraktionen nach Umstellung auf fettarme, kohlenhydratreiche Kost bei der Versuchsperson W.L.

● Gesamtlipide, ○ Phosphatide, ■ Gesamtcholesterin, ■ Cholesterinester, □ freies Cholesterin, ● Neutralfett.

Das Verhalten der Phosphatidfraktionen unter der kohlenhydratreichen Diät ist in der "Zeitschrift der gesamten experimentellen Medizin" (76) mitgeteilt worden. Interessant scheint - neben den fast unveränderten Lysolecithin-, Sphingomyelin- und Lecithinfraktionen - das stetige Ansteigen der Kephaline bei W.L. Dies wird bei G.W. bis zum 14. Tag ebenfalls deutlich, allerdings fallen die Werte danach wieder ab. - Die gaschromatographische Analyse der Fettsäuren aus den Cholesterinestern zeigt bei beiden gleichartige Veränderungen (Tab. 11 und Abb.10). Für Linolsäure wurde trotz unterschiedlicher Ausgangswerte eine gleiche Abfallrate gefunden, während Palmitin-, Palmitolein- und Ölsäure am Ende des Versuches relativ vermehrt vorlagen (Abb. 10). Die Arachidonsäure verhielt sich bei beiden im Prinzip gleich. Ihre Veränderungen können nach zwischenzeitlichem Absinken im Sinne einer Vermehrung gedeutet werden. Jedoch sind die Veränderungen nicht signifikant ($t=0,82$) (77). - Die Veränderungen der Phosphatid-Fettsäuren (Tab. 12 und Abb.10) waren ähnlich, d.h., daß auch hier die Linolsäure am 25. Tag stark vermindert war. Es kam ferner zu einer Vermehrung von Stearinsäure, die in den Phosphatiden normalerweise höher konzentriert vorliegt als in den Cholesterinestern, bei G.W. um mehr als das Doppelte. Palmitin- und Palmitoleinsäure veränderten sich bei beiden Versuchspersonen nicht wesentlich. Ölsäure und Arachidonsäure zeigten ein unterschiedliches Verhalten; bei W.L. blieb der Wert für Arachidonsäure gleich, während er bei G.W. absank.

Untersuchungen des subcutanen Fettgewebes und der Cutis (Tab. 13), die einem der beiden Versuchspersonen (G.W.) am 25. Tag aus der Regio abdominalis lateralis entnommen wurden, ergaben bezüglich der essentiellen Fettsäuren keine erheblichen Veränderungen gegenüber Normalwerten aus der Literatur (32,78). Es war nur eine geringgradige Vermehrung von Stearin- und einer C_{20:1}- Säure zu beobachten. Ölsäure war deutlich vermehrt, während Palmitolein- und Linolsäure etwas vermindert waren. Inwieweit diese Werte mit denen aus der Literatur vergleichbar sind, bleibt offen.

	12:0	14:0	15:0	16:0	16:1	17:0	18:0	18:1	18:2	18:3	19:0	20:2	20:3	20:4	20:5	22:2
G.W. prae	+	1,3	0,5	13,0	5,2	0,8	0,6	27,8	43,8	+	+	0,3	0,5	5,8	0,4	+
9.Tag	-	1,0	+	14,6	4,8	0,5	0,5	30,0	37,5	+	+	0,7	0,9	8,5	0,9	-
14.Tag	+	1,1	0,5	18,5	6,5	1,0	0,7	28,6	33,0	2,9	+	1,6	0,5	2,8	2,3	+
26.Tag	+	1,6	0,5	15,9	8,8	1,2	0,9	38,3	23,8	1,3	+	+	0,9	6,8	+	+
W.L. prae	-	1,6	0,4	10,4	3,0	+	0,5	18,9	56,9	+	+	-	-	8,3	+	-
9. Tag	-	0,7	+	12,1	5,3	+	1,5	28,3	41,1	0,6	+	1,6	1,2	7,6	+	-
14. Tag	-	1,0	0,4	14,0	3,8	0,5	0,7	26,8	43,3	+	+	+	0,8	7,5	1,2	-
26.Tag	+	1,3	0,3	12,8	5,7	0,9	1,1	33,6	30,4	1,0	+	+	0,9	9,6	2,4	-

Tab. 11 Das Verhalten der Fettsäuren der Cholesterinester bei fettarmer, kohlenhydratreicher Kost.
(Werte in Prozenten der gesamten mit Cholesterin veresterten Fettsäuren.) Die Werte für Gesamtcholesterin und freies Cholesterin können Abb. 8 und 9 entnommen werden.

	14:0	15:0	16:0	16:1	17:0	18:0	18:1	18:2	18:3	19:0	20:0 oder 20:1	20:2	20:3	20:4	20:5	22:5	22:6
G.W. prae	+	+	23,3	0,9	0,7	14,1	16,4	30,1	0,5	0,5	0,2	0,5	3,0	8,3	1,5	-	-
26.Tag	1,7	2,7	21,7	1,8	+	42,3	12,6	7,6	+	2,0	+	-	1,6	3,2	3,0	+	+
W.L. prae	+	+	29,9	1,5	+	15,7	13,7	26,5	0,6	+	+	0,5	2,1	8,2	1,3	+	+
26.Tag	0,8	0,5	27,6	2,1	0,9	23,1	16,0	11,1	+	+	+	+	3,3	8,1	2,8	+	3,7

Tab. 12

Das Verhalten der Fettsäuren der Phosphatide bei fettarmer, kohlenhydratreicher Kost.
(Werte in Prozenten der gesamten Phosphatidfettsäuren.) Die Werte für Gesamtphosphatide
können aus Abb. 8 und 9 entnommen werden.

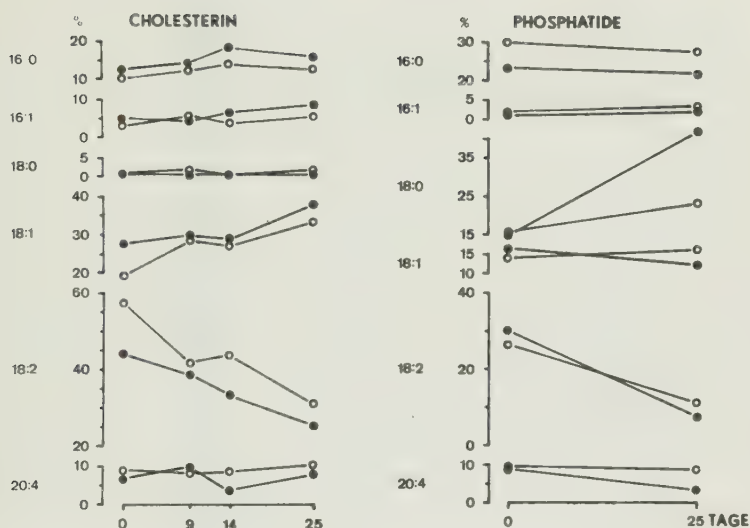


Abb. 10 Verhalten der relativen Konzentrationen der einzelnen Fettsäuren der Cholesterinester und der Phosphatide nach Umstellung auf fettarme, kohlenhydratreiche Kost.
 ○ Versuchsperson G.W., ● Versuchsperson W.L.

	14:0	15:0	16:0	16:1	17:0	18:0	18:1	18:2	18:3	19:0	20:1	20:3	20:4
Subcutanes Fettgewebe (G.W.)	4,4	+	18,5	4,4	+	5,8	56,2	7,9	0,5	+	2,3	-	-
Cutis (G.W.)	2,3	+	20,7	5,6	+	4,7	56,7	7,1	+	+	2,9	-	-
HIRSCH et al. (32) (n = 12)	3,3 ± 0,1 ± 0,1	0,6 ± 0,1 ± 0,1	19,5 ± 2,1	6,9 ± 0,1	1,0 ± 0,3	4,2 ± 1,1	41,2 ± 4,4	11,4 ± 1,4	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,6 ± 0,3	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1
KRUT u. BRONTE- STEWART (78)	3,4 ± 0,2 ± 0,3	0,6 ± 0,3	22,7 ± 2,6	8,4 ± 2,2	0,6 ± 0,3	4,3 ± 1,6	45,4 ± 4,1	9,7 ± 3,6	0,7 ± 0,4	-	0,9 ± 0,5	-	+

Tab. 13

Das Verhalten der Fettsäuren des subcutanen Fettgewebes und der Cutis nach 25 Tagen fettarmer, kohlenhydratreicher Kost im Vergleich zu anderen in der Literatur angegebenen Normalwerten.
(Werte in Prozenten der Gesamtfettsäuren.)

E. Diskussion

Die placentare Membran bestimmt durch ihre spezifischen Permeabilitätsverhältnisse (4) weitgehend die nutritive Versorgung des Feten. Wie beschrieben, passiert die Glucose diese "Schranke" außerordentlich gut (2), während die Lipide nach POPJÁK (5) und anderen den Feten erst nach intraplacentarer Hydrolyse erreichen. So besteht nach Untersuchungen von POPJÁK (8) an Ratten, Kaninchen und Meerschweinchen für Lecithin, Kephalin, Sphingomyelin und Cholesterin keine Möglichkeit der Passage; Phosphatide werden in Form von Bruchstücken diaplacentar transportiert und vom fetalen Gewebe neu synthetisiert; Cholesterin wird de novo gebildet, es soll den Feten jedoch auch als intaktes Molekül erreichen (79). Einen Beweis für eine Resynthese nach intraplacentarem Abbau gibt die im Vergleich zum Erwachsenen gesteigerte Lipoidsyntheserate des fetalen Gewebes (80,81,82).

Die Herkunft der im Nabelschnurblut gefundenen essentiellen, cis-konfigurierten Fettsäuren (Tab. 2,3 und 4) ist noch umstritten (5). Nach JOHNSTON et al. (30) ist die Ratten-Placenta für trans-konfigurierte Polyenfettsäuren nicht durchlässig. Versuche von BERNHARD und Mitarbeitern (83,84) an trächtigen Ratten sprechen jedoch für einen diaplacentaren Transport von essentiellen Fettsäuren. So konnten bei den Jungen fettfrei ernährter schwangerer Ratten Symptome eines Fettmangelzustandes erzeugt werden (83). Im Gegenexperiment erhöhte sich die fetale Konzentration der Linolsäure, wenn die Ratten-Mütter linolsäurereich ernährt wurden (84). Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß nach DECIO und ALAMANNI (85) Vitamin E unverändert die Placenta passiert. Nach HORWITT (86,87) hängt nämlich der Bedarf an Vitamin E von der Menge der zugeführten ungesättigten Fettsäuren ab. Möglicherweise ist der diaplacentare Transport dieses wichtigen Antioxydans ein Hinweis auf die Passage essentieller Fettsäuren via Placenta.

Die oben beschriebenen Untersuchungen der Cholesterinester (Tab. 3,4 und 5) und die gleichartige essentielle Fettsäurezusammensetzung in den Phosphatiden des Nabelschnurblutes (70) lassen zu der Frage einer Passage von Polyenfettsäuren keine Aussage zu. Mit dem Nachweis der im Nabelschnurblut vermehrten Arachidonsäure (Tab. 5 und Zitat 70) wird jedoch die Hypothese eines relativen Mangels an essentiellen Fettsäuren beim Neugeborenen (15) unwahrscheinlich, da die im Mangelzustand vermehrt aus Ölsäure gebildete Δ 5,8,11-Eikosatriensäure (28) sowohl in den Cholesterinestern als auch in den Phosphatiden (70) nur in Spuren nachgewiesen werden konnte. Die Vermehrung der Arachidonsäure bei gleichzeitiger Abnahme der Linolsäure ist möglicherweise als Folge des von MEAD et al. (88) nachgewiesenen Umbaus von Linol- zu Arachidonsäure, der nach THOMASSON (89) biologisch aktivsten essentiellen Fettsäure, zu deuten. Dieser Umbau im Polyenfettsäure-Muster wäre somit die Folge einer Besonderheit des fetalen Stoffwechsels, dessen Notwendigkeit durch den hohen Arachidonsäurebedarf der Phosphatidsynthese, d.h. der Bildung der Strukturlipide verständlich wäre (23,90).

Theoretisch kann der hohe Gehalt des Nabelschnurblutes an Arachidonsäure auch als eine Bereitstellung von Vorstufen für die Synthese von Prostaglandinen (91,92) angesehen werden, deren antipolytische Wirkung im Fettgewebe der Ratte (93) und des Hundes (94) in vitro bzw. in vivo nachgewiesen werden konnte. Beim erwachsenen Menschen bewirken diese Substanzen nur bei gleichzeitiger intravenöser Gabe von Catecholaminen eine Verminderung der durch letztere hervorgerufenen Fettsäuremobilisierung des Fettgewebes (95). Interessant wäre, die Wirkung der Prostaglandine beim Feten zu kennen. Es wäre nämlich denkbar, daß beim Feten ein derartiger verstärkter "Schutz" durch die aus Arachidonsäure gebildeten Prostaglandine auf das Fettgewebe vorliegt, da der Fetus nach POPJAK (5) das de novo gebildete Fett ausschließlich speichert und nicht energetisch

verwendet. Ein möglicher Hinweis für das Bestehen eines auf den Feten beschränkten antilipolytischen Mechanismus' ist der Anstieg der Freien Fettsäuren wenige Stunden nach der Geburt (96,97,98). Die oben angegebenen dünnsschichtchromatographischen Untersuchungen der Cholesterinester von Säuglingen (Abb.6) zeigen ein schnelles Absinken der relativ erhöhten Arachidonsäure nach der Geburt; dieses Verhalten könnte als Zusammenbrechen der postulierten Prostaglandinwirkung im Feten gedeutet werden.

Zu der Arbeit von WOODRUFF et al. (99) über die Gesamtfettsäuren nach der Geburt kann aufgrund der eigenen Untersuchungen über die mit Cholesterin veresterten Fettsäuren gesagt werden, daß nach der Geburt ein langsamer Anstieg der Linolsäureester (Abb. 6 und 7) und dessen viel raschere Zunahme nach zusätzlicher Linolsäurezufuhr (Abb. 6 und Tab. 7) zu beobachten ist. Diese Befunde können nur so gedeutet werden, daß der wachsende Organismus einen Linolsäurebedarf hat, der, weder durch die üblichen künstlichen Ernährungsformen noch durch die sehr viel linolsäurereichere Muttermilch so weit gedeckt wird, daß die maximal möglichen Erwachsenenwerte erst am Ende des zweiten Lebensjahres (Abb. 6) erreicht werden. Dennoch kann man annehmen, daß den Feten, Säuglingen und Kleinkindern genügend essentielle Fettsäuren zur Verfügung stehen, so daß es nicht zu groben Mangelercheinungen kommt. Dies wird trotz niedriger Linolsäurespiegel durch die fetal überhöhten (Tab. 5) und die postnatal normalen Arachidonsäurewerte (Abb. 6 und 7) wahrscheinlich gemacht. Ob sich unter diesen Bedingungen subklinische Mangelercheinungen wie Infektanfälligkeit, Resorptionsstörungen u.a. einstellen können, bleibt noch zu klären; Untersuchungen von DROESE und STOLLEY (37) können jedenfalls in diesem Sinne ausgelegt werden.

Bei den Cholesterinestern des Feten (Tab. 5) fällt neben den diskutierten Veränderungen der essentiellen Fettsäuren ein im Vergleich zum Erwachsenen vermehrtes Auftreten gesättigter

und einfach ungesättigter Fettsäuren auf, und zwar von Palmitin-, Palmitolein- und Ölsäure. Diese Veränderungen können nach LYON et al. (100) als Folge einer kohlenhydratbedingten Lipogenese in fetu angesehen werden, die wegen der bevorzugten placentaren Passage der Glucose (2) und der dadurch gegenüber der mütterlichen Seite um etwa 30% gesteigerten fetalen Blutzuckerspiegel (2) möglich erscheint. Eine Verminderung der essentiellen Fettsäuren müßte im Rahmen dieser Betrachtung als Verdrängung durch die vermehrt gebildeten gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren am Ort der Plasmalipidsynthese erklärt werden.

Welchen Einfluß das im fetalen Organismus synthetisierte Insulin auf die beschriebene Fettsäure-Zusammensetzung des Nabelschnures hat, kann nicht entschieden werden. Daß Beziehungen zwischen Insulin, Glucose und Lipidsynthese in der Fettgewebszelle bestehen, ist durch neuere Untersuchungen von CROFFORD und RENOLD (101, 102) sichergestellt worden. Die beiden Autoren konnten an inkubierten epididymalen Fettzellen der Ratte nachweisen, daß in der Fettzellmembran ein Insulinsensitives Transport-System für Glucose vorhanden sein muß, welches die Diffusion von Glucose in die Fettzelle erleichtert. Diese Beobachtung ist von Bedeutung, weil das Fettgewebe als ein Ort für die Synthese langkettiger Fettsäuren unter dem Einfluß von Glucose angesehen wird.

Mit Hilfe der oben beschriebenen Ernährungsversuche sollte versucht werden zu klären, ob sich die Konzentration der Plasmalipoide und die Verteilung der in ihnen enthaltenen Fettsäuren des Erwachsenen unter dem Einfluß von kohlenhydratreicher Diät entsprechend der beim Feten vorgefundenen Veränderungen ergeben würden. Hier soll - aus den genannten Gründen (s.S.36) - nur das dritte Experiment diskutiert werden.

Das Absinken der "großen Lipoidfraktionen" (Abb. 8 und 9) nach Verminderung des Fettgehaltes der Nahrung ist schon lange bekannt und wird bei Hyperlipoidämien therapeutisch genutzt. Bemerkenswert ist in erster Linie das Ansteigen der Neutralfettspiegel. Diese Beobachtung ist vielleicht das physiologische Gegenstück zur "carbohydrate induced lipemia", deren Entstehen bei AHRENS und SPRITZ (33) besonders deutlich demonstriert wird. Auch MACDONALD und BRAITHWAITE (35) haben nach kohlenhydratreicher Kost einen Anstieg einer Lipoidfraktion beobachtet, die neben freiem Cholesterin im wesentlichen Neutralfette enthielt, interessanterweise aber nur bei "Rohrzuckerdiät", nicht bei "Stärkediät". Welcher dieser beiden Kostformen mit der im dritten Versuch zu vergleichen ist, kann kaum entschieden werden, da der Fructosegehalt des verwendeten Obstes nicht berechnet wurde.

Der Anstieg der Kephaline (siehe Seite 39 und Zitat 76), der unter der Diät als einzige Veränderung innerhalb der Phosphatidfraktion festgestellt wurde, ist möglicherweise mit den von ZÖLLNER et al. (70) im Nabelschnurblut ebenfalls erhöht vorgefundenen Kephalin-Werten in Beziehung zu bringen. Ob es sich dabei um eine Kohlenhydrat-abhängige Veränderung handelt, bedarf weiterer Untersuchungen.

Der ausgeprägte Abfall der Linolsäure in den Cholesterinester- und Phosphatidfraktionen (Tab. 11 und 12), den auch AHRENS und SPRITZ (33), FAIRHURST und WATERHOUSE (34) sowie MACDONALD und BRAITHWAITE (35) beobachtet hatten, ist am einfachsten durch den alimentären Mangel an Linolsäure zu erklären. Diese Theorie läßt jedoch keine Aussage darüber zu, warum die Arachidonsäuregehalte nahezu konstant blieben (Tab. 11 und 12). Wahrscheinlich hat Arachidonsäure eine geringere Affinität zu den essentiellen Fettsäuren abbauenden Enzymsystemen. Eine andere Möglichkeit wäre eine größere Resistenz der Arachidonsäure-haltigen Lipide gegenüber Esterasen. Daß unterschied-

liche Mechanismen vorhanden sein müssen, wird durch die Arbeit von IMAICHI et al. (103) unterstützt, die bei völliger Nahrungskarenz bei zwei adipösen Frauen ebenfalls einen Abfall der Linolsäureverbindungen fanden, während Arachidonsäure sogar relativ wie absolut etwas zunahm.

Die Frage, ob durch die fettarme, kohlenhydratreiche Diät innerhalb 25 Tagen eine latente "essential fatty acid deficiency" (25) aufgetreten sein kann, muß nach MEAD et al. (27) verneint werden, da sich die typischerweise vermehrten Verbindungen des Ölsäuretyps (28) nicht nachweisen ließen. Dennoch sprechen einige Veränderungen in der Fettsäure-Zusammensetzung für eine endogene Polyensäuresynthese, mit deren Hilfe der Organismus anscheinend das Fehlen der alimentären Zufuhr auszugleichen versucht. Hinweis dafür ist einmal das vermehrte Auftreten von zweifach ungesättigten C_{20} -Säuren (Tab. 11), die bei der Arachidonsäuresynthese nicht als Intermediate vorkommen (104); zum anderen lassen sich nach KLENK und Mitarbeiter (105,106) $C_{20:4}$ -Fettsäuren nicht nur - wie im Fall der Arachidonsäure - vom Linolsäure-, sondern auch vom Palmitoleinsäuretyp ableiten. Die oben durchgeführte Benennung der bei kohlenhydratreicher Diät und im Nabelschnurblut gefundenen "Arachidonsäure" ist also nur vorläufig. Ferner spricht die Vermehrung von $C_{20:5}$ dafür (Tab. 11 und 12), daß unter den Versuchsbedingungen auch der Linolsäuretyp (107) Bedeutung erlangen kann.

Die Veränderungen der gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren innerhalb der Cholesterinester- und Phosphatidfraktionen waren unterschiedlich; dennoch sprechen die Befunde nach LYON et al. (100) für eine Lipogenese aus Kohlenhydraten. Bei den Cholesterinestern (Tab. 11) waren nämlich Palmitin-, Palmitolein- und Ölsäure relativ und teilweise absolut erhöht; bei den Fettsäuren der Phosphatide (Tab. 12)

ergab sich eine Vermehrung der Stearinsäure (bei G.W. um mehr als das doppelte). Die Verminderung der essentiellen Fettsäuren wäre auch hier als Verdrängung durch die vermehrt gebildeten gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren zu erklären.

Die Analyse der Gesamtfettsäuren aus dem subcutanen Fett (Tab. 13) stimmt gut mit denen von MACDONALD und BRAITH-WAITE (35) überein. Sie bestätigen erneut die Befunde von HIRSCH et al. (32,108), nach denen sich Änderungen in der Fettsäurezufuhr erst nach langer Zeit auswirken. Die Forderung einer langen Versuchsdauer erfüllten GELLHORN et al. (109), die Ratten bis zu 120 Tagen fettfrei ernährten. Sie fanden im epididymalen Fettgewebe eine Verminderung von Linol- und Linoleinsäure gegenüber einer Vermehrung einfach ungesättigter Fettsäuren; es resultierte also eine "Verdrängung" essentieller Fettsäuren durch Monoen-Fettsäuren.

Die im Nabelschnurblut und im Erwachsenen-Serum kohlenhydratreich ernährter Versuchspersonen nachgewiesenen Veränderungen innerhalb der Fettsäure-Zusammensetzung lassen sich als Folge einer Umstellung des Energiestoffwechsels auf Kohlenhydratverbrennung interpretieren. Eine Reihe von Befunden spricht dafür, daß bei bevorzugter Kohlenhydratzufuhr der Abbau der Glucose nicht auf glykolytischem, sondern auf direkt oxydativem Weg über den Pentose-Phosphat-Zyklus erfolgt (SIPERSTEIN, 110). Bei kohlenhydratreich gefütterten Ratten konnten TEPPERMAN und TEPPERMAN (111) im Lebergewebe eine drei- bis zehnfach gesteigerte Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Aktivität nachweisen, ebenso ALLMANN und GIBSON (112) bei gleichartig ernährten Mäusen. In einer weiteren Studie von TEPPERMAN und TEPPERMAN (113) an ausschließlich mit markierter Glucose ernährten Ratten ergab sich in Leberschnitten ein Ansteigen von Acetyl-CoA, Glycerophosphat und NADPH_2 . Ferner deuteten

FREEDMANN und GRAFF (114) ihre Ergebnisse an kohlenhydratreich ernährten Ratten als eine Glucose-bedingte oxydative Decarboxylierung von Pyruvat zu Malat.

Die vermehrte Bildung von NADPH_2 via Pentose-Phosphat-Zyklus (113) ist in Beziehung zu bringen zu der von ALLMANN und GIBSON (112) im Linolsäuremangel beobachteten vermehrten Oxydation von NADPH_2 . Es fällt also unter diesen Bedingungen vermehrt NADP an, welches für die Polyenfettsäuresynthese notwendig ist. Nach STOFFEL (115) wird nämlich die Einführung der olefinischen Doppelbindung durch NADP katalysiert. Damit lassen sich die gleichbleibenden Arachidonsäurekonzentrationen der Versuchspersonen und die gegenüber dem Erwachsenen gesteigerten Arachidonsäurewerte des Feten deuten. Auch die Befunde von ALLMANN et al. (116), die bei kohlenhydratreicher Fütterung vorher hungernder Ratten in den Fettsäuren der Leber neben einem Linolsäureabfall einen Anstieg der Arachidonsäure fanden, weisen in diese Richtung.

F. Zusammenfassung

1) Die dünnschichtchromatographischen Untersuchungen der Cholesterinester aus Nabelschnurblut ergaben eine Erniedrigung des Gesamtcholesterins sowie eine Verminderung der Ester der Dienfettsäuren und eine Vermehrung der Tri- und Tetraenfettsäure-Ester gegenüber entsprechenden Werten des Erwachsenen. Diese Befunde bestätigten die Angaben anderer Autoren.

2) Die gaschromatographische Trennung der Fettsäuren der Serumcholesterinester von Neugeborenen ergab eine Verminderung von $C_{18:2}$ und eine Vermehrung von $C_{20:4}$ sowie eine Vermehrung von $C_{16:0}$, $C_{16:1}$ und $C_{18:1}$.

3) Die Untersuchungen über das Verhalten des Cholesterins und der Cholesterinester nach der Geburt zeigten, daß die Tetraenfettsäuren innerhalb der ersten Lebenswochen rasch abfallen, während die Dienfettsäure-Ester erst am Ende des zweiten Lebensjahres die Werte des Erwachsenen erreichen.

4) Bei einem Säugling, der eine linolsäurereiche Nahrung erhielt, konnte ein beschleunigter Anstieg der Dienfettsäuren im Plasma nachgewiesen werden. Ein normal ernährtes Kind diente als Kontrolle.

5) Die postulierte einseitige Energieversorgung des fetalen Stoffwechsels mit Kohlenhydraten wurde an Erwachsenen durch Verabreichung fettarmer, kohlenhydratreicher Diäten kopiert.

a) Zwei Ernährungsversuche ergaben keine wesentlichen Veränderungen innerhalb der Plasmalipide der Versuchspersonen. Das wird auf einen zu hohen Fettgehalt der Diät (= 20 Cal%) zurückgeführt.

b) In einem dritten Versuch wurde zwei männlichen Versuchspersonen 25 Tage lang eine fettarme (0,8 - 2,3 Cal%), kohlen-

hydratreiche (75 - 86 Cal%) Kost verabreicht. Im Plasma sanken Cholesterin und Phosphatide ab; die Neutralfette stiegen gegen Versuchsende an. In den Cholesterinestern und Phosphatiden des Serums nahm der Gehalt an $C_{18:2}$ rasch ab, während $C_{20:4}$, wahrscheinlich Arachidonsäure, sich nicht signifikant änderte. Weniger ungesättigte C_{20} -Säuren stiegen vorübergehend an. Die Fettsäuren des Depotfetts wichen während des Versuches nicht von der Norm ab.

G. L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

- 1) JAMES, A.T. and A.J.P.MARTIN Biochem.J. 50, 679 (1952).
- 2) HAGERMAN, D.D. and C.A.VILLEE Physiol.Rev. 40, 313 (1960).
- 3) McCANCE, R.A. Lancet 1962/II, 621.
- 4) BARTELS, H. und W.MOLL Pflügers Arch.ges.Physiol, 280, 165 (1964).
- 5) POPJÁK, G. "Placental impermeability to fetal lipids", in: Mechanisms of Congenital Malformations, S.56; Second Scientific Conference, Assoziation for the Aid of Crippled Children, 1954.
- 6) KULANGARA, A.C. and A.M. SCHECHTMAN Amer.J.Physiol. 203, 1071 (1962).
- 7) GINTLIN, D., J.KUMATE, J.URRUSTI and C.MORALES J.Clin.Invest. 43, 1938 (1964).
- 8) POPJÁK, G. Cold.Spr.Harb.Symp.quant.Biol. 19, 200 (1954).
- 9) HERMANN, E. und J.NEUMANN Biochem.Zschr. 43, 47 (1912).
- 10) SLEMONS, J.M. and H.J.STANDER Bull.Johns Hopkins Hosp. 34, 7 (1923).
- 11) BOYD, E.M. Amer.J.Dis.Child. 52, 1319 (1936).
- 12) AUERSWALD, W., W.DOLESCHER und W.MÜLLER-HARTBURG Klin.Wschr. 41, 580 (1963).
- 13) WIESE, H.F. and A.E.HANSEN Fed.Proc. 18, 551 (1959).
- 14) WOODRUFF, C.W. and J.G.CONIGLIO Fed.Proc. 19, 222 (1960).
- 15) ZÖLLNER, N. und G.WOLFRAM Klin.Wschr. 40, 267 (1962).
- 16) WIESE, H.F., A.E.HANSEN and D.J.D.ADAM J.Nutrit. 66, 345 (1958).
- 17) ADAM, D.J.D., A.E.HANSEN and H.F.WIESE J.Nutrit. 66, 555 (1958).
- 18) HANSEN, A.E., M.E.HAGGARD, A.N.BOELSCHER, D.J.ADAM and H.F.WIESE J.Nutrit. 66, 565 (1958).

- 19) HANSEN, A.E., H.F. WIESE, A.N. BOELSCHKE, M.E. HAGGARD, D.J.D. ADAM and H. DAVIS Pediatrics 31 (suppl. 1, part II), 171 (1963).
- 20) BURR, G.O. and M.M. BURR J. Biol. Chem. 82, 345 (1929).
- 21) BURR, G.O. and M.M. BURR J. Biol. Chem. 86, 587 (1930).
- 22) BURR, G.O. Fed. Proc. 1, 224 (1942).
- 23) KINGERY, F.A.J. and R.E. KELLUM Arch. Dermat. 91, 272 (1965).
- 24) HANSEN, A.E., R.A. STEWART, G. HUGHES and L. SÖDERHJELM Acta paediat. (Uppsala) suppl. 137, 51, 1 (1962.)
- 25) AAES-JØRGENSEN, E. Physiol. Rev. 41, 1 (1961).
- 26) HOLMAN, R.T. Nutr. Rev. 16, 33 (1958).
- 27) MEAD, J.F. and W.H. SLATON J. Biol. Chem. 219, 705 (1957).
- 28) FULCO, A.J. and J.F. MEAD J. Biol. Chem. 234, 1411 (1959).
- 29) NUNN, L.C.A. and I. SMEDLEY-MACLEAN Biochem. J. 32, 2178 (1938).
- 30) JOHNSTON, P.V., O.C. JOHNSON and F.A. KUMMEROW Proc. Soc. Exper. Biol. Med. (N.Y.) 96, 760 (1957).
- 31) ZÖLLNER, N. Dtsch. med. Wschr. 89, 731 (1964).
- 32) HIRSCH, J., J.W. FARQUHAR, E.H. AHRENS jr., M.L. PETERSON and W. STOFFEL Amer. J. Clin. Nutr. 8, 499 (1960).
- 33) AHRENS, E.H. jr. and N. SPRITZ In: "Biochemical Problems of Lipids" B.B.A. Library Vol. 1, S. 304 Elsevier Publ. Co. Amsterdam - London - New York Elsevier 1963.
- 34) FAIRHURST, B.J. and C. WATERHOUSE Amer. J. Clin. Nutr. 13, 92 (1963).
- 35) MACDONALD, I. and D.M. BRAITHWAITE Clin. Sci. 27, 23 (1964).
- 36) JOCHIMS, J. Dtsch. med. Wschr. 86, 851 (1961).
- 37) DROESE, W. und H. STOLLEY Dtsch. med. Wschr. 86, 855 (1961).
- 38) Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen, 6. Auflage, 1960.

- 39) AHRENS, E.H. jr., Amer.J.Clin.Nutr. 2, 336 (1954).
V.P.DOLE and
D.H.BLANKENHORN
- 40) SPERRY, W.M. In: "Methods of Biochemical Analyses"
Vol.2, S.83 Interscience Publishers
New York - London, 1955.
- 41) FOLCH, J., I.ASCOLI, J.Biol.Chem. 191, 833 (1951).
M.LEES, J.A.MEATH
and F.N.LeBARON
- 42) ZAK, B., R.C.DICKEN- Amer.J.Clin.Path. 24, 1307 (1954).
MAN, E.G.WHITE,
H.BURNETT and
P.J.CHERNEY
- 43) STAHL, E., G.SCHRÖ- Pharmazie 11, 633 (1956).
TER, G.KRAFT und
R.RENZ
- 44) STAHL, E. Chemiker-Ztg. 82, 323 (1958).
- 45) STAHL, E. Parfümerie und Kosmetik 39, 564 (1958).
- 46) STAHL, E. Archiv d.Pharmazie 292, 411 (1959).
- 47) STAHL, E. Pharmaz.Rdsch. 1, 1 (1959).
- 48) STAHL, E. und U.KAL- J.Chromatogr. 5, 351 (1961).
TENBACH
- 49) STAHL, E. Z.analyt.Chem. 181, 303 (1961).
- 50) STAHL, E. und Hoppe-Seyler's Z.physiol.Chem.
P.J.SCHORN 325, 263 (1961).
- 51) STAHL, E. Dünnschichtchromatographie.
Springer-Verlag, Berlin - Göttingen
- Heidelberg, 1962.
- 52) ZÖLLNER, N., K.KIRSCH Verh.Dtsch.Ges.inn.Med.
und G.AMIN 66, 677 (1960).
- 53) ZÖLLNER, N. und Klin.Wschr. 40, 1098 (1962).
G.WOLFRAM
- 54) ZÖLLNER, N. und Klin.Wschr. 40, 1101 (1962).
G.WOLFRAM
- 55) ZÖLLNER, N., G.WOLF- Klin.Wschr. 40, 273 (1962).
RAM und G.AMIN
- 56) WOLFRAM, G. Dissertation, Universität München, 1965.
- 57) KEULENMANS, A.I.M. "Gas-Chromatographie", Verlag Chemie,
und E.CREMER Weinheim/Bergstraße, 1959.
- 58) KAISER, R. "Chromatographie in der Gasphase"
Bibliographisches Institut, Mann-
heim, 1960.

- 59) BAYER, E. "Gaschromatographie", Springer-Verlag, Berlin - Göttingen - Heidelberg, 1962.
- 60) CARROLL, K.K. J.Lipid Res. 2, 135 (1961).
- 61) HIRSCH, J. and E.H.AHRENS, jr. J.biol.Chem. 233, 311 (1958).
- 62) EBERHAGEN, D. Hoppe-Seyler's Z.physiol.Chem. 333, 179 (1963).
- 63) EBERHAGEN, D. Z.analyt.Chem. 212, 230 (1965).
- 64) EBERHAGEN, D. "Gaschromatographische Untersuchung." In: Untersuchung und Bestimmung der Lipide im Blut, hrsg. von N.ZÖLLNER und D.EBERHAGEN, S.183. Springer-Verlag, Berlin - Göttingen - Heidelberg, 1965.
- 65) CRAIG, B.M. and N.L.MURPHY J.Amer.Oil Chemists Soc. 36, 549 (1959).
- 66) HORNING, E.C., E.H.AHRENS jr., S.R.LIPSKI, P.A.TURNER and W.H.GOLD-WATER J.Lipid Res. 5, 20 (1964).
- 67) ZÖLLNER, N. und K.KIRSCH Z.ges.exp.Med. 135, 545 (1962).
- 68) BARTLETT, G.R. J.Biol.Chem. 234, 466 (1959).
- 69) ZÖLLNER, N. "Lipoidstoffwechsel". In: Thannhausers Lehrbuch des Stoffwechsels und der Stoffwechselkrankheiten, 2.Aufl., hrsg. von N.ZÖLLNER, Thieme-Verlag, Stuttgart, 1957.
- 70) ZÖLLNER, N., G.WOLFRAM, W.LONDONG und K.KIRSCH Klin.Wschr. 44, 380 (1966).
- 71) DOLE, V.P., A.T.JAMES, J.P.WEBB, M.A.RIZACK and M.F.STURMAN J.Clin.Invest. 38, 1544 (1959).
- 72) HALLGREN, B., S.STENHAGEN, A.SVANBORG and L.SVENNERHOLM Pediatrics 25, 375 (1960).
- 73) SCHRADER, W., R.BIEGLER and E.BOEHLE J. Atheroscler.Res. 1, 47 (1961).
- 74) LUTHER, G. und K.SCHREIER Klin.Wschr. 41, 189 (1963).
- 75) FOOD AND NUTRITION BOARD "Recommended Dietary Allowances", publication 589, National Research Council, Washington, D.C., 1958.

- 76) ZÖLLNER, N., G. WOLFRAM und W. LÖNDONG Z.ges.exp.Med. 140, 24 (1966).
- 77) HENRYSSON, S., O.W.HASELOFF und H.J.HOFFMANN "Kleines Lehrbuch der Statistik", Verlag Walter de Gruyter & Co., Berlin 1960.
- 78) KRUT, L.H. and B.BRONTE-STEWART J.Lipid Res. 5, 343 (1964).
- 79) SADOWSKY, A., Q.BRZEZINSKI, Y.BROMBER and F.ROSENTHAL Exper.Med.Surg. 5, 97 (1947), Zit. nach (2).
- 80) GOLDWATER, W.A. and W. DE STETTEN J.Biol.Chem. 169, 723 (1947).
- 81) POPJÁK, G. and M.L.BEEKMANS Biochem.J. 46, 547 (1950).
- 82) SCHREIER, K. Z.Kinderheilk. 91, 228 (1964).
- 83) BERNHARD, K. und H.BODUR Helv.Chim.Acta 29, 1782 (1946).
- 84) BERNHARD, K., S.LEISINGER und H.WAGNER Z. f.Ernährungsw. Suppl.3 (1963).
- 85) DECIO, R. und V.AIAMANNI Minerva ginecol. 8, 381 (1956), Zit. nach (2).
- 86) HORWITT, M.K. Amer.J.Clin.Nutr. 8, 451 (1960).
- 87) HORWITT, M.K. Vitamins Hormones, N.Y. 20, 541 (1962).
- 88) MEAD, J.F., G.STEINBERG and D.R.HOWTON J.Biol.Chem. 205, 683 (1953).
- 89) THOMASSON, E. Nature 194, 973 (1962).
- 90) SINCLAIR, H.M. "Effects of Deficiency of Essential Fatty Acids", in: Essential Fatty Acids, hrsgg. von H.M.Sinclair, New York und London, Academic Press, Inc., 1958, Seite 249.
- 91) HORTON, E.W. Experientia 21, 113 (1965).
- 92) SAMUELSSON, B. Angew.Chem. 77, 445 (1965).
- 93) STEINBERG, D., M.VAUGHAM, P.NESTEL and S.BERGSTRÖM Biochem.Pharmacol. 12, 764 (1963).
- 94) BERGSTRÖM, S., L.A.CARLSSON and L.ÖRÖ Acta physiol.Scand. 60, 170 (1964).
- 95) BERGSTRÖM, S., L.A.CARLSSON, L.G.EKELUND and L.ÖRÖ Biochem.J. 92, 42 P (1964).

- 96) HAVEL, R.J., J.M. FELTS, J. Lipid Res. 3, 297 (1962).
and C.M. VAN DUYN
- 97) NOVAK, M., V. MELICHAR Biol. Neonat. 7, 179 (1964).
and P. HAHN
- 98) WERNER, E. und Z. Kinderheilk. 89, 160 (1964).
E. MÖHMANN
- 99) WOODRUFF, C.W., M.C. BAILEY - Amer. J. Clin. Nutr. 14, 83 (1964).
LEY, J.T., DAVIS, N. RO-
GERS and J.G. CONIGLIO
- 100) LYON, I., M.S. MASRI, J. Biol. Chem. 196, 25 (1952).
and I. CHAIKOFF
- 101) CROFFORD, O.B. and J. Biol. Chem. 240, 14 (1965).
A.E. RENOLD
- 102) CROFFORD, O.B., and J. Biol. Chem. 240, 3237 (1965).
A.E. RENOLD
- 103) IMAICHI, K., G.D. MICHA- Amer. J. Clin. Nutr. 13, 226 (1963).
ELS, S. HOLTON and
L.W. KINSELL
- 104) MEAD, J.F. and J. Biol. Chem. 229, 575 (1957).
D.R. HOWTON
- 105) KLENK, E. und K. OETTE Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.
318, 86 (1960).
- 106) KLENK, E. und G. TSCHÖPE Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.
334, 193 (1963).
- 107) KLENK, E. Experientia 17, 199 (1961).
- 108) HIRSCH, J., J.W. FAR- J. Clin. Invest. 38, 1011 (1959).
QUHAR, M.L. PETERSON
and W. STOFFEL
- 109) GELLHORN, A., W. BENJAMIN J. Lipid Res. 3, 314 (1962).
and M. WAGNER
- 110) SIPERSTEIN, M.D. Amer. J. Med. 26, 685 (1959).
- 111) TEPPERMAN, J. and Amer. J. Physiol. 193, 55 (1958).
H.M. TEPPERMAN
- 112) ALIMANN, D.W. and J. Lipid Res. 6, 51 (1965).
D.M. GIBSON
- 113) TEPPERMAN, J. and Amer. J. Physiol. 200, 1069 (1961).
H.M. TEPPERMAN
- 114) FREEDMANN, A.D. and J. Biol. Chem. 233, 292 (1958).
S. GRAFF
- 115) STOFFEL, W. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.
333, 71 (1963).
- 116) ALIMANN, D.W., J. Lipid Res. 6, 63 (1965).
D.D. HUBBARD and
D.M. GIBSON

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden zum Teil veröffentlicht:

ZÖLLNER, N.: Die Cholesterinester des Plasmas,
Dtsch.med.Wschr. 89, 731 (1964).

ZÖLLNER, N., G.WOLFRAM und W.LONDONG:

Untersuchungen über die Plasmalipoide bei
extrem fettarmer, kohlenhydratreicher Kost,
Z.ges.exp.Med. 140, 24 (1966).

ZÖLLNER, N., G.WOLFRAM, W.LONDONG und K.KIRSCH:

Untersuchungen über die Plasmalipoide des
Neugeborenen, Säuglings und Kleinkindes,
Klin.Wschr. 44, 380 (1966).

Herrn Professor Dr. med. Nepomuk ZÖLLNER danke ich für die Überlassung des Themas, für seine wohlwollende Unterstützung sowie seine kritische Anleitung während der experimentellen Untersuchungen.

Den Assistentinnen des Labor 390, vor allem Fräulein Katharina KIRSCH, möchte ich für viele praktische Ratschläge zu den durchgeführten Analysen danken.

Dem MARGARINE - INSTITUT für gesunde Ernährung, Hamburg, bin ich für die Gewährung eines Stipendiums und für die Teilfinanzierung der Versuchskosten zu Dank verpflichtet.

Lebenslauf

Als Sohn des Versicherungsbeamten Emil Londong und seiner Ehefrau Elise, geb. Schrooten, wurde ich am 26. Januar 1939 in Neukirchen-Vluyn/Kreis Moers geboren. Von 1946 bis 1950 besuchte ich die Pestalozzi-Schule, danach die Julius-Stursberg-Schule, ein naturwissenschaftlich-mathematisches Gymnasium in Neukirchen-Vluyn.

Nach dem Abitur im Februar 1959 begann ich das Medizinstudium an der Philipps-Universität in Marburg/Lahn. Zum Wintersemester 1962/63 immatrikulierte ich mich in München an der Ludwig-Maximilians-Universität, an der ich im Sommer 1966 das medizinische Staatsexamen ablegte.



